

Manejo y reproducción *ex situ* de la rana venenosa del Cauca *Ranitomeya bombetes* en el Zoológico de Cali, Colombia

Ex situ management and reproduction of the Cauca poison-dart frog *Ranitomeya bombetes* at Cali Zoo, Colombia

Geven Rodríguez-Suárez¹, Germán Corredor-Londoño²

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, Colombia. Se evaluaron cuatro dietas para la alimentación de larvas: carnívora, herbívora, TetraMin-ProCare® y carnívora + TetraMin-ProCare® (50% c/u). Se hizo el análisis de la dieta sólo hasta el estadio 30. La dieta con TetraMin-ProCare® fue la más eficiente porque las larvas mostraron rápido crecimiento. Se llevó a cabo la descripción de los cambios en las posturas siguiendo los parámetros morfológicos de Gosner (1960). Se hizo el registro fotográfico de algunos estadios embrionarios y larvarios, además del registro ventral y dorsal de la post-metamorfosis. Se evaluaron diferentes proporciones de sexos en ocho terrarios. Se colectaron 53 huevos en 43 posturas. De las 43 posturas, 33 fueron de un huevo y las 10 restantes de dos. 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 en la tierra de capote, así como la fertilidad de los huevos depositados allí. La proporción con un mayor número de posturas fue de 2M:3H. Se logró reproducir exitosamente la especie bajo condiciones de laboratorio.

Palabras clave: Amphibia; Anura; Dendrobatidae; Renacuajos; Huevos; Cría en cautiverio; *Ranitomeya bombetes*.

Abstract

This work had as objective to study the appropriate conditions in captivity for the handling of *Ranitomeya bombetes* in order to get a successful reproduction at Cali Zoo, Colombia. 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: carnivorous, 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. Of these 43 egg-postures, 33 were from one egg and the rest were from two 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 the time of duration of the different embryonic and larval stages following the morphologic parameters from Gosner (1960). A photographic record was kept of some of the embryonic and larval stages, besides the ventral and dorsal registry of the post-metamorphosis. Different sex proportions were evaluated in 8 terrariums. The proportion with greater number of clutches was of 2M: 3F. It was managed to successful reproduce the species under laboratory conditions.

Keywords: Amphibia; Anura; Dendrobatidae; Tadpoles; Eggs; Captive husbandry; *Ranitomeya bombetes*.

¹ Estudiante de Maestría en Ciencias-Biología, Universidad del Valle, Cali, Colombia.
e-mail: geven.rodriguez@javeriana.edu.co

² Centro de Investigación para la Conservación CREA, Fundación Zoológica de Cali, Colombia.
e-mail: german.corredor@gmail.com

Fecha recepción: Octubre 5, 2012

Fecha aprobación: Diciembre 5, 2012

Introducción

Algunos factores como el calentamiento global, pérdida del hábitat, especies introducidas, polución química y enfermedades cutáneas producidas por el hongo *Batrachochytridium dendrobatidis*, al parecer han contribuido con el declive de las poblaciones de anfibios en sus ambientes naturales (Blaustein y Bancroft 2007, Kriger y Hero 2007), sobre todo las que habitan en regiones tropicales (Lips *et al.* 2005). 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 que sirven de base para los programas de conservación *in situ* (CVC y EcoAndina 2007).

El grupo de especialistas de cría para la conservación de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN, CBSG por su sigla en inglés), 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 sobre los requerimientos de mantenimiento y cría de muchas especies prioritarias y poner en marcha planes de conservación que incorporen la investigación y la educación (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* 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 año 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 (Corredor y Uribe 2007, 2008, Furrer y Corredor 2008). Han sido exitosamente criadas las especies de ranas venenosas como *Oophaga histrionica* y *Dendrobates truncatus*.

A nivel mundial Colombia ocupa el segundo puesto en diversidad de anfibios (Anuros) y aunque tengamos este privilegio, las investigaciones sobre esta diversidad son muy pocas (Rueda-Almonacid *et al.*

2004). 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 (Falk 2001). La demanda por estos ejemplares y el deterioro de sus hábitat han llevado a muchas poblaciones al peligro de extinción (Rueda-Almonacid *et al.* 2004).

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) (Rueda-Almonacid *et al.* 2004, CBSG IUCN-SSC 2006, Stuart *et al.* 2008). Como muchas otras especies en Colombia, su comportamiento reproductivo no se ha estudiado ampliamente como tampoco, el desarrollo embrionario y larvario, limitándose a unas pocas descripciones de huevos y larvas (Myers y Daly 1980, Suárez-Mayorga 1999). 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* ya adelantados o propuestos 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 *R. 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. Asimismo, se realizó una descripción de los cambios progresivos de las posturas, haciendo énfasis en el tiempo de duración de los diferentes estadios embrionarios y larvarios y cuatro dietas diferentes para la alimentación de larvas, determinando cuál es la mejor para su desarrollo y crecimiento.

Metodología

Población de estudio y muestra. Los parentales utilizados para el presente estudio (grupo fundador), se colectaron en el municipio de Dagua a una altitud de 700 m. Los datos de desarrollo embrionario y larvario se tomaron a partir de las posturas prove-

nientes 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.

Colecta de ejemplares. Se colectaron 30 individuos adultos en la quebrada «El zanjón de las Ángelas», vereda «Los Alpes», municipio de Dagua. La colecta se realizó a lo largo de un transecto de 200 m sobre la quebrada entre las 8:00 y 10:00 horas. Los especímenes se concentraban al borde de la cañada dentro del ecosistema de bosque seco tropical o subxerofítico (Bolívar *et al.* 2004).

Manejo de ejemplares en cuarentena. El grupo fundador proveniente del campo fue transportado hasta el zoológico y llevado a uno de los laboratorios del Centro de Atención de Fauna Silvestre (CAFS) donde fueron puestos en cuarentena por un mes (julio 17-agosto 13). Durante este tiempo se les realizó un tratamiento para eliminar ectoparásitos y hongos cutáneos, para lo cual se empleó ivermectina y sporanox respectivamente. Además fueron objeto de 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 declorada para mantener alta la humedad, hojarasca esterilizada y una ramita de una enredadera de la familia Araceae. Cada tres días el papel toalla se cambió y las hojas secas se lavaron. Las cajas se humedecieron dos veces al día con un aspersor manual (mañana y tarde) con agua declorada. Los individuos se alimentaron cada tercer día con grillos (*Acheta domesticus*) de tres días de nacimiento. Pasada la cuarentena, las hojas secas se incineraron y los recipientes se lavaron con suficiente jabón para luego ser esterilizados con hipoclorito.

Pie parental. Un total de 35 individuos (30 colectados en campo y cinco ya existentes en el laboratorio), 17 machos y 18 hembras, conformaron el grupo fundador. Estos parentales se ubicaron en ocho 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 se identificaron por

su canto y la coloración azul leve en el saco gular. Además, cada individuo se diferenció por su patrón de coloración ventral, el cual es único para cada uno y su variación en etapa adulta es constante.

Los grupos parentales se ubicaron en terrarios de vidrio con dimensiones de 45cm de frente, 50 cm de fondo y 60 de alto. Diariamente los terrarios se humedecieron 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. La temperatura promedio dentro del laboratorio fue 23,9°C (DE 1,1; máx 27,1; mín 21,7; n: 43). Estas condiciones ambientales se adaptaron de los datos de temperatura y humedad definidos en la literatura (Laszlo 1981, Zimmermann 1989, Corredor y Uribe 2007, 2008, Furrer y Corredor 2008).

Variables del estudio

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), que se sometieron a cuatro tipos diferentes 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 registró 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 por tres tipos de harina 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 y gelatina sin sabor. Estas dos dietas son dos tipos de alimento especiales usados para la alimentación de tortugas dentro del Zoológico de Cali. 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 for-

mar 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).

Preferencia por el lugar de postura. En cada terrario se dispuso cinco lugares para la ovoposición: 1) tierra de capote (mantillo de bosque); 2) mitades de tubo de PVC de media pulgada y 3 cm de largo; 3) corteza de árbol; 4) hojas secas; 5) envases plásticos de rollo de fotografía. Cada postura se colectó y se le abrió un registro para su posterior seguimiento, donde se anotó el tipo de sustrato donde fue puesta (Figura 1).

Proporción de sexos. El grupo fundador empleado en el estudio fue de 35 individuos adultos y se dividieron en diferentes núcleos reproductivos: dos terrarios de 2Machos:3Hembras; dos de 3M:2H; uno de 3M:1H; dos de 1M:3H y uno de 1M:2H, con el fin de determinar la proporción de sexos más productiva en términos de huevos fértiles.

Posturas. Los ocho terrarios 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, la mortalidad y el tamaño de la postura. Finalizado el estudio, se analizó la frecuencia de postura y a partir de estos huevos se realizó el estudio del de-

sarrollo embrionario y larvario.

Fertilidad, mortalidad, tamaño y frecuencia de posturas. Para cada postura se registró su tamaño, fertilidad y mortalidad con el fin de determinar el tamaño promedio de la postura, rango de postura, porcentaje de fertilidad y muerte. La mortalidad de los embriones y las 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 rótulo. La frecuencia de postura se contabilizó para cada terrario, teniendo en cuenta el número de posturas mensuales. Como no se tuvo la certeza de cual hembra era la que depositaba los huevos, el número de posturas se analizó en conjunto para cada terrario.

Estudio del desarrollo. Los huevos se ubicaron en una caja de Petri humedecida hasta un cuarto de la altura del huevo. Cada huevo colectado se manejó individualmente y se rotuló 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, con indicación de la



Figura 1. Adecuación de terrarios para cría de *R. bombetes* en el Zoológico de Cali. 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 los sustratos empleados para la postura de huevos (Fotos: Geven Rodríguez).

frecuencia de las posturas.

Desarrollo embrionario. Cada huevo tuvo seguimiento diario de su desarrollo embrionario, para lo cual se observaron 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 registraron las medidas de longitud total (LT), cabeza y cola. A partir de este momento se inició la descripción del desarrollo larvario.

Desarrollo larvario. Se definió desde el día de la eclosión (rompimiento de la cápsula) hasta el final del estadio 46 (Gosner 1960), donde el individuo ya ha reabsorbido totalmente la cola. Las larvas se mantuvieron dentro de recipientes plásticos con suficiente agua. Estos recipientes se introdujeron en cajones plásticos con capacidad para almacenar máximo 24 larvas (manejo individual). Las larvas se alimentaron 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) se cambiaron a recipientes con poca agua (no mayor a lo alto de la larva) con el fin de facilitar la salida del agua.

Recolección de la información. Cada tercer día, luego de haber pasado el mes de cuarentena, los terrario se revisaba en los lugares de postura destinados para tal fin. Cuando se encontraban posturas, los huevos se retiraban del terrario. Cuando las posturas eran mayores a un huevo, estos se manejaban por separado y se rotulaban independientemente. Se llevaba un registro del día de postura, estadio embrionario (Gosner 1960), lugar de postura y número de terrario.

Análisis de información. Para el análisis de la información empleamos pruebas estadísticas no paramétricas únicamente para el experimento de dietas. Para las variables referentes a posturas (frecuencia, tamaño, fertilidad, mortalidad, duración de las etapas) se aplicó estadística descriptiva con promedios, desviación estándar, máximos y mínimos.

Análisis de la dieta. La influencia de la dieta y su posterior análisis tuvo dos componentes que se analizaron por separado. Un componente fue la dieta frente al desarrollo larvario, para el cual se aplicó una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis porque 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 se analizaron 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.

Manejo de post-metamorfos. Al terminar el estadio 46 (absorción completa de la cola), las pequeñas ranas se pasaron a cajas plásticas. Cada caja contenía papel toalla humedecido, como sustrato, 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. Cada tres días el papel toalla se cambió. Las cajas se humedecieron dos veces al día con un aspersor manual (mañana y tarde) con agua de clorada. A la tapa de cada caja se les hizo una abertura (50%) que luego se cubrió con anjeo, para la entrada constante de aire. Las ranas se alimentaron durante los primeros 15 días con colémbolos; pasado este tiempo se complementó el alimento con grillos (*A. domesticus*) de tres días de nacidos. Para las medidas iniciales de los post-metamorfos se llevó a cabo un registro fotográfico y luego se utilizó el programa ImageJ® 1.40 para tomar las medidas del crecimiento.

Resultados y discusión

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. La prueba de 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. La prueba de comparación múltiple (PCM) mostró diferencias significativas entre la dieta herbívora: carnívora + TetraMin-ProCare y herbívora: TetraMin-ProCare® en el estadio 25; entre 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).

Se ha descrito que la dieta para larvas que son depositadas en pequeños resumideros de agua, tal como ocurre en *R. bombetes*, se compone principalmente de partículas en suspensión, pero puede va-

Tabla 1. Estadística para determinar la influencia de la dieta sobre el desarrollo larval.

Estadio	Chi ²	Levene	K-W	Comparación múltiple
25	p:0,0035	0,23	0,00035	Herb * Carn + Tetra p:0,033 Herb * Tetra p:0,0034
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

Pruebas $p \leq 0,05$. Decisión $p \leq 0,05$ rechazo

Tabla 2. Estadística para determinar la influencia de la dieta sobre la longitud total.

Estadio	Chi ²	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

Pruebas $p \leq 0,05$. Decisión $p \leq 0,05$ rechazo

riar 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 las larvas de esta especie pueden consumir larvas de zancudo, las cuales fueron suministradas esporádicamente a algunas pocas larvas (n=5).

Son inciertos los componentes nutricionales de la dieta con TetraMin-ProCare® que pudieron haber influido sobre el crecimiento, por lo que pueden ser objeto de una próxima investigación. Este estudio fue solamente descriptivo y no se conocen los componentes nutricionales de la dieta TetraMin-ProCare®. Además, es 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 y Travis 1994) como a la temperatura y calidad del ambiente donde estas se encuentren (Álvarez y Nicieza 2002). Según lo anterior, aunque se sugiera que las larvas de *R. bombetes* son detritívoras, no necesariamente cualquier alimento puede suplir las necesidades para su óptimo desa-

rollo, por lo que cada componente de su dieta aportará ciertos tipos de nutrientes que sumados darán buenos resultados en el desarrollo y crecimiento.

Dieta vs. tamaño. Las pruebas estadísticas realizadas a los datos de dieta vs. tamaño (LT) demostraron ser normales, con homogeneidad de varianzas según la prueba de Levene. El ANAVA no mostró diferencias significativas en ninguno de los estadios (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 seis estadios muestran que los promedios del tamaño (longitud total) en las larvas con dieta herbívora fueron homogéneos y mayores con respecto a las demás dietas. Lo anterior contrasta con el análisis hecho para el desarrollo larvario, en el cual la dieta herbívora comparativamente retrasó el tiempo de duración de todos los estadios.

Preferencia por lugar de postura. Sólo hasta el día 16 posterior al período de cuarentena se escucharon los primeros «zumbidos» típicos de la especie, permitiendo identificar a los machos adultos. Un total de 43 posturas se recolectaron durante un período de cuatro meses (octubre de 2008 hasta enero de 2009). De estas, 33 (76,7%) se colectaron sobre tierra de capote, con un total de 41 huevos; 7 (16,3%) se colectaron sobre corteza, con un total de 8 huevos y 3 (7%) se colectaron en la hojarasca con un total de 4 huevos (Tabla 3). No se encontraron posturas en los tubos de PVC y en los envases plásticos de rollos fotográficos. Aunque estos dos últimos lugares de ovoposición han sido exitosos para especies como *Phillobates terribilis*, *Oophaga histrionica*, *O. lehmanni* y *Dendrobates truncatus* en el Zoológico de Cali (Corredor y Uribe 2007, 2008), los especímenes de *Ranitomeya bombetes* no los utilizaron y en ninguna ocasión se observaron cerca a estos. Lo anterior contradice lo sugerido por Lötters *et al.*

Tabla 3. Preferencia por el lugar de postura en los terrarios de parentales.

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

* Los porcentajes corresponden al número de posturas por el total de terrarios.

(2007), quienes sugieren los envases fotográficos para la cría de especies del género particularmente para *R. bombetes*.

La fertilidad varió en relación con el sustrato, siendo mayor en los huevos puestos sobre tierra de capote (73,2%); los puestos sobre corteza tuvieron el 50% de fertilidad y de aquellos puestos sobre hojarasca sólo el 33,3% se encontraron fértiles. En los trabajos previos sobre el comportamiento reproductivo de *R. bombetes* (Myers y 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, que 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 y Zimmermann 1985).

Proporción de sexos. De las cinco proporciones de sexos utilizadas para los grupos parentales, todas mostraron ovoposición, con excepción de la proporción 1M:2H en la que nunca se registraron huevos. De este tratamiento no existía réplica y el factor de individualidades pudo haber afectado el resultado. La proporción 2M:3H tuvo el mayor número de posturas y una alta fertilidad, 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 1M:3H con 8 posturas, 10 huevos y una fertilidad del 50%.

Época reproductiva. En octubre se colecta-

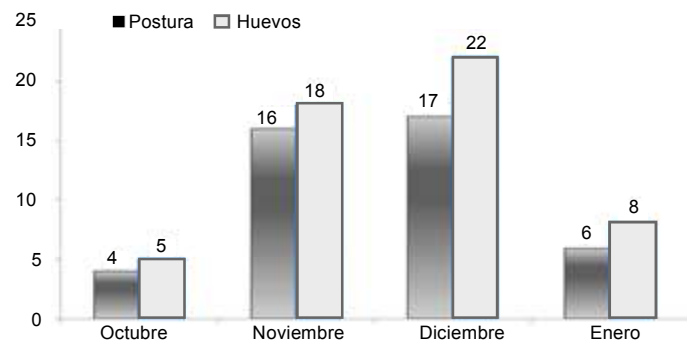


Figura 2. Época reproductiva de *R. bombetes* en el Zoológico de Cali.

ron las primeras cuatro posturas, representadas por cinco huevos. A partir de este mes, las posturas se colectaron en promedio cada 19,2 días (DE=16,21; n=18) (Figura 2).

Tamaño de posturas y fertilidad. El total de huevos colectados entre octubre de 2008 y enero 2009 fue 53, de los cuales 35 (66%) eran fértiles. El rango de postura varió entre uno y dos huevos con un total de 43 posturas, encontrándose un mayor número de posturas de un solo huevo (76,7%) y un menor número de posturas de dos huevos (23,3%).

El tamaño de las posturas no superó los dos huevos, similar al tamaño de postura descrito para *Dendrobates imitator* y *D. reticulatus* (Zimmermann 1989). La fertilidad de estas posturas no siempre fue igual, encontrándose en varias ocasiones que cuando la postura superó los dos huevos, sólo uno era fértil. 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, en comparación 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 dos huevos (60%) mientras que en posturas de un solo huevo la fertilidad fue mayor (70%). La fertilización de los huevos en la especie es desconocida; Suárez-Mayorga

(1999) sugiere que el macho, además de seleccionar el lugar de ovoposición, deposita previamente los espermatozoides en este lugar, donde la hembra luego pondrá uno o varios huevos. Este tipo de comportamiento resalta una desventaja en el caso de posturas grandes, porque los espermatozoides podrían morir antes de la fertilización de los huevos o que los huevos en su totalidad no entren en contacto con ellos. No obstante, la mortalidad de los espermatozoides de la especie fue evaluada por Suárez-Mayorga (1999), quien observó que estos pueden permanecer vivos durante un largo 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 el cual la fertilización es posterior a la ovoposición, las posturas pueden ser mayores, como ocurre en *P. terribilis* y *O. histriónica* (Zimmermann y Zimmermann 1985, Corredor y Uribe 2007).

Etapa embrionaria. El huevo de *R. bombetes* midió en promedio 3,9 mm de diámetro ($n=45$, $DE=0,23$). La duración de la etapa embrionaria en promedio duró 20,3 días (min 16; máx 24; $n=24$; $DE=2,44$). Los estadios 6, 7 y 8 se observaron en sólo 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 se registraron en ninguna de las observaciones, por ser etapas que ocurrieron en menos de 24 horas (Tabla 4). Las primeras etapas embrionarias (estadio 6-19) no tardaron más de dos días y se notaron casi consecutivamente durante las 24 horas siguientes a su observación. Los estadios 23, 24 y 25 tardaron más tiempo con respecto a la duración promedio de los estadios previos. El máxi-

mo número de días que tardó un estadio fue cuatro y esto únicamente se observó 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 (Figura 3. Se muestra algunas de las etapas embrionarias que se lograron registrar).

Etapa larvaria. La duración del desarrollo larvario en *R. bombetes* duró 109 días (min 108; máx 112; $n \geq 80$, $DE=2,8$) 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 y Coloma 2008); mientras que en *Dendrobates truncatus* y *Oophaga histriónica* puede tardar 56 y 71 días, respectivamente (Corredor y Uribe 2007).

Se observó que la duración del desarrollo larvario 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, tiempo muy por encima de los que fueron alimentados con TetraMin-ProCare®. Otros estudios experimentales han comprobado que pueden variar los períodos de duración para el crecimiento y desarrollo en larvas, dependiendo de las condiciones de temperatura y alimento (Álvarez y Nicieza 2002). Por tanto, la temperatura con la que se manejaron las larvas, no pudo ser un factor de mortalidad, contrario a las características del alimento. Posterior a la eclosión, la longitud inicial promedio de un total de 25 larvas fue: cabeza 3,61 mm ($DE=0,44$), cola 7,87 mm ($DE=0,72$) y longitud total 11,43 mm ($DE=0,97$) (Tabla 5) (Figura 4).

Post-metamorfos. Durante el período de observaciones, un total de cuatro larvas lograron finalizar la metamorfosis exitosamente. El promedio de la medida inicial de los postmetamorfos fue: longitud rostro-cloacal = 1,24 cm ($DE=0,04$), tibia-tarso=0,57 cm ($DE=0,02$) y antebrazo=0,38

Tabla 4. Duración en número de días de los estadios embrionarios.

Estadios	\bar{X} día	Min	Máx	DE	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

Mín: es el número de días mínimo que tardó cada estadio. Máx: es el número de días máximo que tardó cada estadio.



Figura 3. Registro fotográfico del desarrollo embrionario.

Tabla 5. Duración por días de los estadios larvarios.

Estadios	\bar{X} día	Min	Máx	DE	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

Min: es el día mínimo que empezó el estadio. Máx: es el último día que fue observado el estadio.

cm (DE =0,02).

Los post-metamorfos se alimentaron con una especie de insecto del orden Collembola de tamaño muy pequeño, menor al de los grillos (*Acheta domesticus*) 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.

Conclusiones

La dieta con TetraMin-ProCare® fue la dieta con la que las larvas se desarrollaron y crecieron más rápidamente. El desarrollo (estadios) y crecimiento (longitud total) no fue significativamente diferente entre todas las dietas. Las dietas herbívora y carnívora no mostraron diferencias, pero el crecimiento fue bueno respecto al encontrado con las dietas de TetraMin-ProCare® y carnívora + TetraMin-ProCare® (50% c/u). Sin embargo, la mortalidad de las larvas fue menor con la dieta TetraMin-ProCare®, siendo este el factor más importante porque el objetivo de la cría en cautiverio es obtener la menor mortalidad y el máximo de productividad en término de individuos que lleguen a edad adulta.

Las condiciones medioambientales y de manejo bajo las cuales se mantuvieron los parentales fueron buenas, teniendo en cuenta que la mortalidad fue cero y estos empezaron a reproducirse rápidamente.

La proporción de sexos más exitosa, en términos del número de posturas fue la de 2M:3H. La proporción 1M:3H tuvo un resultado similar a uno de los terrarios con la proporción de sexos anterior, pero el tratamiento con la misma proporción no tuvo el mismo resultado.

La tierra de capote con una cubierta de protección fue el lugar de preferencia en la ovoposición de *R. bombetes*; este tipo de substrato mantiene humedad y brinda protección a la postura.

Se describe por primera vez y detalladamente el desarrollo embrionario y larvario de *Ranitomeya bombetes* y los respectivos registros fotográficos. No había sido registrada antes la reproducción exitosa de esta especie en cautiverio. Se logró obtener cuatro pequeñas ranas que no murieron y se mantuvieron sanas hasta la culminación de este estudio. El procedimiento metodológico empleado para cumplir con el objetivo de cría fue bueno y exitoso, lo que sugiere que es posible la cría en cautiverio de esta especie.

Literatura citada

- Álvarez D, Nicieza AG. 2002. Effects of temperature and food quality on anuran larval growth and metamorphosis. *Funct Ecol.* 16: 640-8.
- Bauer L. 1988. Pijlgifkickers en verwanten: de familie Dendrobatidae. *Het Paludarium.* 1: 1988: 1-6.
- Blaustein AR, Bancroft BA. 2007. Amphibian population declines: Evolutionary considerations. *Bioscience.* 57: 437-44.
- Bolivar W, Echeverry J, Reyes M, Gómez N, Salazar MI, Muñoz LA, et al. 2004. *Plan de Acción en Biodiversidad del Valle del Cauca: Propuesta Técnica.* Cali, Bogotá: Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca e Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. 166 pp.
- Brust D. 1993. Maternal brood care by *Dendrobates pumilio* – a frog that feeds its young. *J Herpetol.* 27: 96-8.
- Castillo-Trenn P, Coloma LA. 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.* Apple Valley: Briefing Book. 64 pp.
- Corredor G, Uribe N. 2007. *Ranas venenosas: Manual de manejo y reproducción en cautiverio.* Cali: CVC-Fundación Zoológica de Cali. 48 pp.
- Corredor G, Uribe N. 2008. Management and reproduction of



Fotos: Geven Rodríguez

Figura 4. 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.

- the Colombian Magdalena River poison-dart frog *Dendrobates truncatus* at Cali Zoo. *Int Zoo Yb.* 42: 71-7.
- Cover JH, Barnett SL, Saunders RL. 1994. Captive management and breeding of dendrobatid and neotropical hylid frogs at the national aquarium in Baltimore. *En: Murphy J, Adler K, Collins JT (eds.). Captive management and conservation of amphibians and reptiles.* Ithaca: Society for the Study of Amphibians and Reptiles. p. 267-73.
- Clarke BT. 1997. The natural history of amphibian skin secretions, their normal functioning and potential medical applications. *Biol Rev.* 72: 365-79.
- CVC, EcoAndina. 2007. *Planes de manejo para 18 vertebrados amenazados del Departamento del Valle del Cauca.* Cali: Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca. 130 pp.
- Duellman WE. 1992. Estrategias reproductivas de las ranas. *Invest Cien.* 192: 54-62.
- 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. Bogotá: Universidad de lo Andes. 32 pp.
- Falk A. 2001. *Terrarios: un ecosistema en casa.* Buenos Aires: Editorial Albatros. 96 pp.
- Fox J, Solange M, Serrato T. 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. *Curr Pharmaceut Des.* 13: 2927-34.
- 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 SC, Corredor G. 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. <<http://earth.google.com/download-earth.html>>. versión 5.0. Consulta: enero 2009.
- Gosner KL. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes and identification. *Herpetologica.* 16: 183-90.
- Grant T, Frost DR, Caldwell JP, Gagliardo R, Haddad CFB, Kok PJR, et al. 2006. Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Amphibia: Athesphatanura: Dendrobatidae). *Am Mus Nat Hist.* 299: 1-262.
- Kruger KM, Hero J-M. 2007. The chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* is non-randomly distributed across amphibian breeding habitats. *Divers Distribut.* 13: 781-8.
- Krzysik A. 1980. Evidence for growth of tadpoles during parental transport in *Colostethus inguinalis*. *J Herpetol.* 14 (4): 426-8.
- Laszlo J. 1981. Further notes on reproductive patterns of amphibians and reptiles in relation to captive breeding. *Int Zoo Yb.* 23 (1): 166-74.
- Leips J, Travis J. 1994. Metamorphic responses to changing food levels in two species of hylid frogs. *Ecology.* 75 (5): 1345-56.
- Limerick S. 1980. Courtship behavior and oviposition of the poison-arrow frog *Dendrobates pumilio*. *Herpetologica.* 36 (1): 67-71.
- Lips K, Burrowes P, Mendelson J, Parra-Olea G. 2005. Amphibian declines in Latin America: widespread population declines, extinctions, and impacts. *Biotropica* 37 (2): 163-5.
- Lötters S, Jungfer K-H, Henkel FW, Schmidt W. 2007. *Poison frogs: Biology, species & captive husbandry.* Frankfurt, Main: Edition Chimaira. 668 pp.
- Myers CW. 1987. New generic names for some neotropical poison frogs (Dendrobatidae). *Pap Avul Zool.* 25: 301-6.
- Myers CW, Daly JW. 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 CW, Daly JW. 1980. Taxonomy and ecology of *Dendrobates bombetes* a new Andean poison frog with new skin toxins. *Am Mus Novitates.* 2692: 1-23.
- Odum RA, Zippel KC. 2008. Amphibian water quality: approaches to an essential environmental parameter. *Int Zoo Yb.* 42: 40-52.
- Quiguango-Ubillús A, Coloma LA. 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: 331-43.
- Rueda-Almonacid JV, Lynch J, Amézquita A. 2004. *Libro rojo de los anfibios de Colombia.* Bogotá: Conservation International. 384 pp.
- Saporito R, Garraffo HM, Donnelly MA, Edwards AL, Longino J T, Daly JW. 2004. Formicine ants: an arthropod source for the Pumiliotoxin alkaloids of dendrobatid poison frogs. *Proceed Nat Acad Sci USA* 101 (21): 8045-50.
- Silverstone PA. 1973. Observations on the behavior and ecology of a Colombian poison-arrow frog, the Kōkoé-Pá (*Dendrobates histrionicus* Berthold). *Herpetologica.* 29 (4): 295-301.
- Silverstone PA. 1975. A revision of the poison-arrow frogs of the genus *Dendrobates* Wagler. *Nat Hist Mus Los Angeles Co Sci Bull.* 21: 1-55.
- Silverstone PA. 1976. A revision of the poison-arrow frogs of the genus *Phyllobates* Bibron in Sagra (Family Dendrobatidae). *Nat Hist Mus Los Angeles Co Sci Bull.* 27: 1-53.
- Stuart SN, Hoffmann M, Chanson JS, Cox NA, Berridge RJ, Ramani P, et al. 2008. Threatened amphibians of the world. Barcelona: Lynx Edicions; Gland: IUCN; Arlington: Conservation International. 758 pp.
- Summers K. 1989. Sexual selection and intra-female competition in the green poison-dart frog *Dendrobates auratus*. *Anim Behav.* 37: 797-805.
- Summers K. 1990. Paternal care and the cost of polygyny in the green poison frog, *Dendrobates auratus*. *Behav Ecol Sociobiol.* 27: 307-13.
- Summers K, Earn D. 1999. The cost of polygyny and the

- evolution of female care in poison frogs. *Biol J Linnean Soc.* 66: 515-38.
- Summers K, Weigt LA, Boag P, Bermingham E. 1999. The evolution of female parental care in poison frogs of the genus *Dendrobates*: Evidence from mitochondrial DNA sequences. *Herpetologica.* 55 (2): 254-70.
- Suárez-Mayorga A. 1999. Comportamiento reproductivo de *Minyobates bombetes* (Amphibia: Anura: Dendrobatidae). Trabajo de grado en Biología. Bogotá: Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.
- Wells K. 1978. Courtship and parental behavior in the Panamanian poison-arrow frog (*Dendrobates auratus*). *Herpetologica.* 34: 148-55.
- Wickramasinghe DD, Ossen KL, Wassersug RJ. 2007. Ontogenetic changes in diet and intestinal morphology in semi-terrestrial tadpoles of *Nannophrys ceylonensis*. *Copeia.* 4: 1012-8.
- Wijngaarden RV, Bolaños F. 1992. Parental care in *Dendrobates granuliferus* (Anura: Dendrobatidae), with a description of the tadpole. *J Herpetol.* 26 (1): 102-5.
- Zimmermann H, Zimmermann E. 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, Zimmermann E. 1985. Zur Fortpflanzungsstrategie des Pfeilgiftfrosches *Phyllobates terribilis* Myers, Daly & Malkin, 1978 (Salientia: Dendrobatidae). *Salamandra.* 21 (4): 281-97.
- Zimmermann H. 1989. Conservation studies on the dart-poison frogs in the field and in captivity. *Int Zoo Yb.* 28: 31-44.