

NUEVOS REGISTROS DE PUESTAS DE HUEVOS DE LA RANITA DE CRISTAL NORTEÑA *HYALINOBATRACHIUM FLEISCHMANNI* (ANURA: CENTROLENIDAE)NEW RECORDS OF OVIPOSITION SITES IN FLEISHMANN'S GLASS FROGS *HYALINOBATRACHIUM FLEISCHMANNI* (ANURA: CENTROLENIDAE)

ERICK RODRIGO OCAÑA DÍAZ^{1,2}, EMILIO ALFONSO SUÁREZ-DOMÍNGUEZ², NAOMI LÓPEZ MENDOZA¹, ORLANDO RAFAEL VIVANCO MONTANÉ¹ & EDGAR AHMED BELLO-SÁNCHEZ^{1*}

¹Laboratorio de Biología del Comportamiento, Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana. Av. Luis Castelazo Ayala s/n, Col. Industrial Ánimas, Km. 3.5, carretera Xalapa-Veracruz, C.P. 91190, Xalapa, Veracruz, México.

²Museo de Zoología, Facultad de Biología-Xalapa, Universidad Veracruzana. Circuito Gonzalo Aguirre Beltrán s/n, Zona Universitaria, C.P. 91090 Xalapa, Veracruz, México.

*Correspondencia: ebello@uv.mx

Abstract.— We report the clutch size, as well as some aspects of the oviposition site and the development stage of the eggs of *Hyalinobatrachium fleischmanni* in central Veracruz.

Keywords.— Natural history, reproduction, tadpole, oviposition site, development stage.

Resumen.— En el presente estudio reportamos el tamaño de puesta, así como algunos aspectos del sitio de oviposición y del estadio de desarrollo de los huevos de la Rana de Cristal Norteña *Hyalinobatrachium fleischmanni* en una localidad de la región central de Veracruz.

Palabras clave.— Historia natural, reproducción, renacuajo, sitio de oviposición, estadio de desarrollo.

Las ranas de la familia Centrolenidae, comúnmente conocidas como ranas de cristal, son un grupo de anuros endémicos de la región tropical de América que se caracterizan por presentar una piel transparente en la región ventral a través de la cual pueden observarse los órganos internos (Cisneros-Heredia & McDiarmid, 2007). Son ranas de actividad nocturna y hábitos arborícolas, suelen encontrarse en vegetación riparia, lugar donde llevan a cabo su reproducción; los huevos son depositados en masas gelatinosas en el haz o el envés de las hojas, estas se encuentran suspendidas sobre ríos y arroyos de corriente moderada o rápida; después de la eclosión (la cual ocurre entre 8 y 21 días después de la oviposición), los renacuajos caen al cuerpo de agua para continuar con su desarrollo (Greer & Wells, 1980; Delia et al., 2010).

De las especies que integran esta familia, la Ranita de Cristal Norteña *Hyalinobatrachium fleischmanni*, es la única que se distribuye en México, y presenta registros en los estados de Oaxaca, Chiapas, Puebla, Morelos y Veracruz, aunque su distribución se extiende hasta el norte de Sudamérica en Colombia y Ecuador (García-Vázquez et al., 2009; Melgarejo-Veléz et al., 2010; AmphibiaWeb, 2020), en un gradiente altitudinal

que va desde el nivel del mar hasta los 2060 metros (Frost 2016; Rodríguez-Rojas & Marín-Pacheco, 2019). *H. fleischmanni* es una rana de talla pequeña (los machos miden 28 mm LHC, mientras que las hembras son ligeramente de mayor tamaño 32 mm LHC) de color verde pálido con manchas amarillas en el dorso, la superficie ventral es transparente o blanca, la cabeza es más ancha que larga y presenta un cuerpo dorsoventralmente aplanado. Se diferencia de otros centrolénidos debido a que sus órganos internos se encuentran cubiertos por una capa de guanina blanca (Guyer & Donnelly, 2005; Köhler, 2011). El tamaño reportado de las puestas varía entre 10 a 50 huevos, los cuales son colocados regularmente sobre el envés de las hojas, y ocasionalmente en el lado superior (Meyer & Farneti Foster, 1996), y son protegidos por los machos para evitar la depredación y/o la desecación (Greer & Wells, 1980; McDiarmid, 1983; Villa, 1984; Meyer & Farneti Foster, 1996; Delia et al., 2010; Salazar-Nicholls & del Pino, 2015). El presente trabajo contribuye con el registro de ocho puestas de huevos de la Ranita de Cristal Norteña (*H. fleischmanni*), con énfasis en el tamaño de la puesta, el estadio de desarrollo de los huevos y la selección de sitio para la oviposición.

El trabajo de campo se llevó a cabo de mayo a octubre de 2018, en el Área Privada de Conservación “Ahimsa”, localizada en las coordenadas extremas 19.374508° N, 96.986681° W y 19.372475° N, 96.983269° W; WGS 84; elev. 1160 m, en el municipio de Teocelo, Veracruz, México. El área presenta un estado de sucesión avanzado con elementos de bosque mesófilo de montaña y vegetación secundaria de selva mediana subcaducifolia (INEGI, 2016). Para el registro de las puestas se llevaron a cabo monitoreos mensuales, durante los cuales se recorrió un transecto lineal de 5X50m (tomando como referencia el margen del cuerpo de agua). Una vez encontradas las puestas, se tomaron fotografías con una cámara digital Nikon 3300 (lente 18-55 mm; f/18; con flash activo), con una regleta como referencia para el posterior conteo de los huevos y la verificación del estado de desarrollo de los embriones (determinado comparativamente a través de la tabla de desarrollo embrionario para *Hyalinobatrachium fleischmanni* por Salazar-Nicholls & del Pino [2015]), aunado a esto, se midió la altura sobre el cuerpo de agua con un flexómetro, y se tomó una muestra de la vegetación para su posterior determinación en laboratorio. La información recopilada fue concentrada en una tabla, donde fueron obtenidos valores descriptivos: media ($\bar{X}$), y desviación estándar (DE).

Durante el monitoreo se registraron un total de ocho puestas de huevos de *Hyalinobatrachium fleischmanni*, así como la observación de cuatro individuos adultos próximos a los sitios de oviposición (Fig. 1), utilizamos un esfuerzo de muestreo de 54 horas/hombre. Las primeras puestas fueron observadas el 31



Figure 1. Adult of *Hyalinobatrachium fleischmanni* perched on the underside of a leaf (*Piper* sp.), close to the clutch.

Figura 1. Adulto de *Hyalinobatrachium fleischmanni* posado en el envés de una hoja (*Piper* sp.), cerca de la puesta.

de agosto de 2018. Las masas de huevos contenían entre 16 y 26 huevos ($\bar{X}$ = 22.87; DE=3.44), ver Tabla 1; el estado de desarrollo de los embriones varió entre el estadio 9 y el 25 (Fig. 2). Los huevos fueron observados a una altura entre 1.44 y 2.6 metros ($\bar{X}$ = 2.19; DE = 0.46), sobre un arroyo con corriente moderada (Tabla 1). Todas las puestas se ubicaron en el envés de las hojas, seis de ellas en piperáceas *Piper hispidum* y *Piper* sp., mientras que las dos restantes en la misma hoja de un ejemplar de *Yucca elephantipes*.

Table 1. Clutch size, plant species in which it was recorded, height above water, and developmental stage of *Hyalinobatrachium fleischmanni* eggs.

Tabla 1. Tamaño de la puesta, especie vegetal en la que fue registrada, altura sobre el cuerpo de agua y estadio de desarrollo de los huevos de *Hyalinobatrachium fleischmanni*.

ID	Tamaño de la puesta	Especie vegetal	Altura (m)	Etapas de desarrollo	
				Estadio / fecha	Estadio / fecha
1	21	<i>Piper</i> sp.	2.48	Estadio 9 / 31-08-2018	
2	21	<i>Piper</i> sp.	2.38	Estadio 25 / 27-09-2018	
3	16	<i>Piper hispidum</i>	1.44	Estadio 10 / 12-10-2018	Estadio 21 / 21-10-2018
4	25	<i>Piper</i> sp.	1.65	Estadio 17 / 12-10-2018	
5	26	<i>Piper</i> sp.	1.91	Estadio 20 / 12-10-2018	Estadio 23 / 21-10-2018
6	23	<i>Yucca elephantipes</i>	2.60	Estadio 23 / 12-10-2018	Estadio 25 / 21-10-2018
7	26	<i>Yucca elephantipes</i>	2.60	Estadio 20 / 12-10-2018	Estadio 23 / 21-10-2018
8	25	<i>Piper</i> sp.	2.52	Estadio 23 / 12-10-2018	
$\bar{X}$=22.87			$\bar{X}$=2.19		
DE=3.44			DE=0.46		

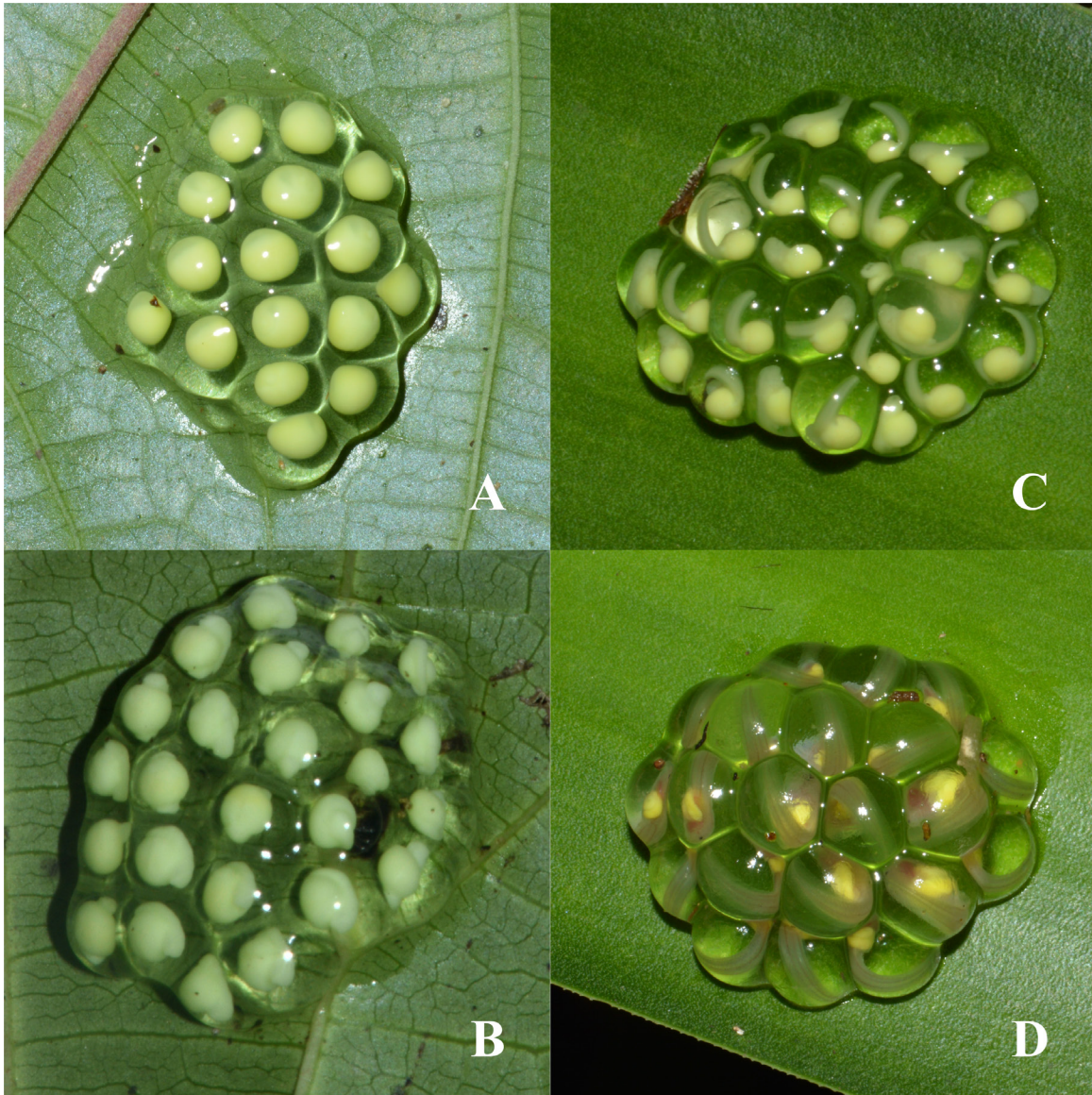


Figure 2. Clutches of *Hyalinobatrachium fleischmanni*, with different developmental stages of the embryos (A. Stage 10 - Early gastrula; B. Stage 17 - Tail bud stage; C. Stage 20 - Circulation to the external gills; and D. Stage 23 - The external gills reached their full size), based on Salazar-Nicholls & del Pino (2015) development table.

Figure 2. Puestas de huevos de *Hyalinobatrachium fleischmanni*, se pueden observar diferentes estadios de desarrollo de los embriones (A. Estadio 10 - Gástrula temprana; B. Estadio 17 - Desarrollo de cola; C. Estadio 20 - Desarrollo de las branquias externas; y D. Estadio 23 - Las branquias externas alcanzan su máximo tamaño), con base en la tabla de desarrollo embrionario de Salazar-Nicholls & del Pino (2015).

El tamaño de la puesta registrada para la Ranita de Cristal Norteña en este estudio fue similar a lo reportado por otros autores, donde se han observado de 10 a 50 huevos (Greer & Wells, 1980; Villa, 1984; Lee, 1996; Delia et al., 2013; Salazar-Nicholls & del Pino, 2015). A pesar de que los primeros registros de puestas en el área de estudio se realizaron a finales del mes de agosto, muy probablemente como lo sugiere Delia et al. (2010),

en la región central de Veracruz, las vocalizaciones de cortejo de los machos, así como las primeras puestas ocurran durante principios de junio con el incremento de las lluvias en la región. Se debe destacar que las vocalizaciones de las ranas en el área solo fueron registradas durante días que presentaron eventos de precipitación, siendo más conspicuos al finalizar la lluvia.

Aunque no fue posible registrar el desarrollo completo de los embriones, así como el momento de su eclosión, algunas de las puestas observadas se encontraban en etapas de desarrollo temprano (estadio 9 y 10), el tiempo máximo entre el registro de la primera y la segunda observación fue de nueve días, destacándose que ninguna de las muestras fue observada en más de dos ocasiones. Esto parece coincidir con el patrón sugerido por otros autores, donde se asume que el tiempo de desarrollo desde la oviposición hasta la eclosión de los huevos presenta un periodo de entre 8 y 21 días (Salazar-Nicholls & del Pino, 2015), o de una a tres semanas, dependiendo de las condiciones ambientales, y los renacuajos caen en los arroyos (Meyer & Farneti Foster, 1996).

En cuanto a la selección de sitios para la oviposición por *Hyalinobatrachium fleischmanni*, se pudo destacar la preferencia por especies vegetales del género *Piper*, la observación de puestas en estas piperáceas supone el primer registro de puestas en estas plantas. El género *Piper* se distribuye naturalmente en el sotobosque de vegetación secundaria de bosques tropicales (Wadt et al., 2004). En particular *P. hispidum* es una especie abundante en vegetación secundaria, no obstante, también puede ocurrir ampliamente en zonas conservadas si estas colindan con áreas con otro tipo de uso de suelo (Escobar-Ocampo & Ochoa-Gaona, 2007), las condiciones descritas anteriormente, se asemejan a las presentes en nuestra área de estudio. Los escasos registros de piperáceas en otros trabajos a pesar de ser plantas que traslapan ampliamente su distribución con *H. fleishmanni*, probablemente se deba a la falta de documentación de la taxonomía vegetal en relación con las ranas.

En contraste con lo anterior, la presencia de puestas en *Yucca elephantipes* ya había sido reportada en otras zonas, sumándose a una larga lista de especies vegetales que son seleccionadas por este anuro para ovipositar, entre las que se incluyen *Dieffenbachia* (Greer & Wells, 1980), *Hedychium*, *Heliconia*, *Calathea*, *Anthurium*, *Philodendron*, *Syngonium*, *Citrus* y *Coffea arabica* (Villa, 1984). El hecho de que dos puestas con diferente estadio de desarrollo hayan sido encontradas sobre una misma hoja de *Y. elephantipes*, así como la distancia asociada entre ambas (41 mm), se atribuye a que ambas puestas pertenecen a un solo macho, que de igual forma fue encontrado vocalizando en la misma planta. Cabe destacar que aunque los machos de *Hyalinobatrachium fleishmanni* suelen estar asociados a múltiples puestas simultáneamente, las masas de huevos se encuentran distribuidas regularmente en forma individual sobre una hoja (Villa, 1984). Esto difiere a lo reportado en otras especies de ranas de cristal como *H. aureoguttatum* (Valencia-Aguilar et al.,

2012), *H. valeroi* (Vockenhuber et al., 2008), entre otras, donde se reportan comúnmente múltiples puestas en una sola hoja.

Con respecto a la selección de las ranas sobre la posición de la puesta en las hojas, se observó una similitud con otros estudios de ranas del género *Hyalinobatrachium* (Delia et al., 2010; Cardozo-Urdoneta & Señaris, 2012), la disposición de la puesta en el envés de las hojas al parecer se encuentra relacionado con una estrategia para reducir los efectos negativos de la radiación solar (Salazar-Nicholls & del Pino, 2015), así como disminuir la depredación de los embriones como de los adultos; quienes brindan cuidado parental durante todo el desarrollo, hasta la eclosión de los huevos (Villa, 1984; Delia et al., 2010; Valencia-Aguilar et al., 2012).

Se debe destacar que la altura media (2.19 metros sobre el cuerpo de agua) a la que fueron encontradas las puestas, parece ser mayor a la reportadas anteriormente para la especie (aproximadamente 0.5 – 1.0 m; Greer & Wells, 1980; Villa, 1984), a pesar de que en el sitio se encontraban disponibles hojas a menor altura. Esto podría indicar que, en sitios conservados con cobertura arbórea y estados avanzados de sucesión, *H. fleischmanni* tenga la capacidad de discriminar y seleccionar sitios para colocar sus puestas, no obstante, se requieren más datos para corroborar esto. Por último, se debe señalar que, aunque el área de estudio y en particular la zona cercana al cuerpo de agua aparenta presentar un buen estado de conservación, todas las puestas y los individuos adultos fueron encontrados en una superficie menor a 100 m², esto podría ser un indicio de las condiciones particulares que requiere esta especie para su reproducción en el extremo norte de su rango de distribución; aunque de igual forma puede deberse a que esta especie suele agregarse, como se ha reportado en otras especies del género, encontrándose hasta cinco individuos adultos activos en la misma planta (Valencia-Aguilar et al., 2012).

Nuestros resultados amplían el conocimiento sobre algunos aspectos reproductivos de la Ranita de Cristal Norteña (*Hyalinobatrachium fleischmanni*) en la región montañosa central de Veracruz, datos que para la zona han sido escasamente reportados. Enfatizamos en la necesidad de realizar mayor investigación para tener una mejor comprensión de la historia natural de la especie en el extremo norte de su distribución.

Agradecimientos.— Agradecemos a Saúl Hernández Carmona, por su apoyo en la determinación taxonómica de las plantas donde fueron encontradas las puestas; a Jorge Vaca Uribe, dueño del Área de Conservación Privada Ahimsa, por brindarnos el acceso y permitirnos trabajar en el sitio. Al proyecto PRODEP

No.DSA/103.5/15/127/PTC-804, por el financiamiento otorgado para la obtención de equipo de campo.

LITERATURA CITADA

- AmphibiaWeb: Information on amphibian biology and conservation. 2020. Berkeley, California: AmphibiaWeb. Disponible: <http://amphibiaweb.org/>. [Consultado en marzo 2020]
- Cardozo-Urdoneta, A. & J.C. Señaris. 2012. Vocalización y biología reproductiva de las ranas de cristal *Hyalinobatrachium pallidum* y *Centrolene daidaleum* (Anura, Centrolenidae) en la sierra de Perijá, Venezuela. Memoria de la Fundación La Salle de Ciencias Naturales 173-174:87-105.
- Cisneros-Heredia, D.F. & R.W. McDiarmid. 2007. Revision of the characters of Centrolenidae (Amphibia: Anura: Athesphatanura), with comments on its taxonomy and the description of new taxa of glassfrogs. Zootaxa 1572:1-82.
- Delia, J., D.F. Cisneros-Heredia, J. Whitney & R. Murrieta-Galindo. 2010. Observations on the reproductive behavior of a Neotropical glassfrog, *Hyalinobatrachium fleischmanni* (Anura: Centrolenidae). South American Journal of Herpetology 5:1-12.
- Delia, J., A. Ramírez-Bautista & K. Summers. 2013. Parents adjust care in response to weather conditions and egg dehydration in Neotropical glassfrog. Behavioral Ecology and Sociobiology 67:557-569.
- Escobar-Ocampo M.C. & S. Ochoa-Gaona. 2007. Estructura y composición florística de la vegetación del Parque Educativo Laguna Bélgica, Chiapas, México. Revista Mexicana de Biodiversidad 78:391-419.
- Frost, D.R. 2020. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.1. American Museum of Natural History, New York. <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/> [Consultado en abril de 2020].
- García-Vázquez U.O., L. Canseco-Márquez, J.L. Aguilar-López, I. Solano-Zabaleta & R.J. Maceda-Cruz. 2009. Noteworthy records of amphibians and reptiles from Puebla, México. Herpetological Review 40:467-470.
- Greer, B.J. & K.D. Wells. 1980. Territorial and reproductive behavior of the Tropical American frog *Centrolenella fleischmanni*. Herpetologica 36:318-326.
- Guyer, C. & M.A. Donnelly. 2005. Amphibians and reptiles of La Selva, Costa Rica and the Caribbean Slope: A Comprehensive Guide. University of California Press, Berkeley.
- INEGI, 2016. Conjunto de datos vectoriales de uso de suelo y vegetación. Escala 1:250 000. Serie VI (Capa Unión). Instituto Nacional de Estadística y Geografía. México. <http://www.conabio.gob.mx/informacion/gis/>. [Consultado en abril de 2020].
- Köhler, G. 2011. Amphibians of Central America. Herpeton, Verlag Elke Köhler. Offenbach, Germany.
- Lee, J.C. 1996. The amphibians and reptiles of the Yucatán Peninsula. Cornell University Press, Ithaca and London.
- McDiarmid, R.W. 1983. *Centrolenella fleischmanni* (Ranita de Vidrio, Glass Frog). Pp. 389-390. En Janzen, D.H. (Ed.). Costa Rican Natural History. University of Chicago Press.
- Melgarejo-Vélez, E.Y., M. Chávez-Ortiz, R. Luría-Manzano, D. Aportela-Cortés, D.M. Galicia-Portano, L. Canseco-Márquez & G. Gutiérrez-Mayén. 2010. Ampliación del área de distribución de la rana *Hyalinobatrachium fleischmanni* (Anura: Centrolenidae) en el estado de Puebla y del límite septentrional de su distribución. Acta Zoológica Mexicana (n.s.) 26:473-476.
- Meyer, J. R. & C. Farneti Foster. 1996. A guide to the frogs and toads of Belize. Krieger Publishing Company, Malabar Florida.
- Rodríguez-Rojas, E. & P. Marín-Pacheco. 2019. Nuevo registro altitudinal de la rana de cristal *Hyalinobatrachium fleischmanni* (Boettger, 1893) (Anura: Centrolenidae). Cuadernos de Herpetología 33:95-96.
- Salazar-Nicholls, M.J. & E.M. del Pino. 2015. Early development of the glass frogs *Hyalinobatrachium fleischmanni* and *Espadarana callistomma* (Anura: Centrolenidae) from cleavage to tadpole hatching. Amphibian & Reptile Conservation 8:89-106.
- Savage, J.M. 2002. The amphibians and reptiles of Costa Rica. University of Chicago Press, Chicago and London.
- Valencia-Aguilar, A., F. Castro-Herrera & M.P. Ramírez-Pinilla. 2012. Microhabitats for Oviposition and Male Clutch Attendance in *Hyalinobatrachium aureoguttatum* (Anura: Centrolenidae). Copeia 2012:722-731.

- Villa, J. 1984. Biology of a Neotropical Glass Frog *Centrolenella fleischmanni* (Boettger), with special reference to its frogfly associates. Milwaukee Public Museum Contributions in Biology and Geology 55:1-60.
- Vockenhuber, E.A., W. Hödl & U. Karpfen. 2008. Reproductive behavior of the Glass Frog *Hyalinobatrachium valeroi* (Anura: Centrolenidae) at the tropical stream Quebrada Negra (La Gamba, Costa Rica). Stapfia 88:335-348.
- Wadt, L.H.O., C. Ehringhaus & P.Y. Kageyama. 2004. Genetic diversity of "Pimenta Longa" genotypes (*Piper* spp., Piperaceae) of the Embrapa Acre germplasm collection. Genetics and Molecular Biology 27:74-82.

