

DESCRIPCIÓN DEL RENACUAJO Y VARIACIÓN ONTOGÉNICA DE *RULYRANA MCDIARMIDI* (ANURA: CENTROLENIDAE) DEL SUR DE ECUADOR

DESCRIPTION OF THE TADPOLE AND ONTOGENIC VARIATION OF *RULYRANA MCDIARMIDI* (ANURA: CENTROLENIDAE) FROM SOUTHERN ECUADOR

Jackeline Arpi Lojano^{1*}, Fausto Siavichay¹, Nataly Aguilar¹ & Juan C. Sánchez-Nivicela^{2,3,4}

¹Centro de Conservación de Anfibios, Bioparque Amaru, Autopista Cuenca-Azogues km 10, Cuenca. Ecuador.

²Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Bogotá D.C., Colombia, Grupo de Investigación Evolución y Ecología de Fauna Neotropical.

³Universidad San Francisco de Quito USFQ, Instituto de Diversidad Biológica Tropical iBIOTROP, Museo de Zoología & Laboratorio de Zoología Terrestre, Laboratorio de Zoología Terrestre y Museo de Zoología, Quito 170901, Ecuador.

⁴Instituto Nacional de Biodiversidad INABIO, División de Herpetología, Quito, Ecuador.

*Correspondence: jackelinedanielaarpi@gmail.com

Received: 2023-03-29. Accepted: 2023-07-03. Published: 2023-07-10.

Editor: Leticia M. Ochoa-Ochoa, México.

Abstract.— We describe the tadpole of the glass frog *Rulyrana mcdiarmidi* and provide ontogenetic information, as well as aspects of size and color variation based on a pair that maintained amplexus for 7 hours and nocturnal egg laying and fertilization on the underside of a rock located above water. The clutch contained 96 embryos, with male parental care for 12 days and tadpole release starting on day 15. The tadpole is characterized by short spiracle and cloacal tube, a long and robust tail with a subacute tip and myotomes along its entire length, caudal fins throughout the tail and reaching their maximum height after the midpoint, medium-sized oral disc with 28 papillae, fully keratinized sheaths, linear upper jaw with 29 teeth, U-shaped lower jaw with 32 teeth, and the dental formula is described. The tadpole is mainly characterized by a coloration ranging from brown to reddish ochre, and in later stages, it becomes yellowish-green with diffuse yellowish-green spots on the dorsum. Additionally, we describe the ontogeny in *R. mcdiarmidi* tadpoles at each stage. Finally, we present aspects of *ex situ* management and information derived from this type of management that are important for a better understanding of the species.

Keywords.— Amphibian, *ex situ*, glass frog, Gosner stages.

Resumen.— Describimos el renacuajo de la rana de cristal *Rulyrana mcdiarmidi* e información ontogénica, así como, aspectos de la variación de tamaños y coloración a partir de una pareja que mantuvo un amplexo de 7:00 horas y una puesta y fertilización nocturna en la superficie inferior de una roca ubicada sobre el agua. La puesta contuvo 96 embriones, con cuidado parental del macho por 12 días y liberación de los renacuajos a partir del día 15. El renacuajo se caracteriza por tener el espiráculo y tubo cloacal cortos, cola larga y robusta de punta subaguda con miotomas en toda la longitud, aletas caudales distribuidas por toda la cola y alcanzan su altura máxima después de la mitad de la cola, disco oral mediano, con 28 papilas, vainas totalmente queratinizadas, en la mandíbula superior lineales con 29 dientes y en mandíbula inferior en forma de U con 32 dientes y se describe la fórmula dental. El renacuajo se caracteriza principalmente por tener una coloración entre marrón y un ocre rojizo, en etapas posteriores se vuelve un amarillo verdoso con puntos difusos amarillos verdosos en el dorso. Además, describimos la ontogenia en los renacuajos de *R. mcdiarmidi* en cada etapa del renacuajo. Finalmente, presentamos aspectos del manejo *ex situ* e información que se toma desde este tipo de manejo importantes para comprender mejor a la especie.

Palabras clave.— Anfibio, etapas Gosner, *ex situ*, rana de cristal.

INTRODUCCIÓN

Las ranas de cristal Centrolenidae (Taylor, 1951) están presentes en el Neotrópico, desde el sur de México hasta el norte de Argentina (Frost 2023; Cisneros-Heredia et al., 2008). La mayor concentración de su diversidad está en los bosques nublados de los Andes de Colombia y Ecuador (Delia et al., 2010). En Ecuador se conocen 63 especies y esta diversidad aún está en aumento (Guayasamin et al., 2022; Ron et al., 2022). Sin embargo, aspectos de su ecología reproductiva, ontogenia y morfología larval, aún son desconocidos para la mayoría de sus especies (Guayasamin et al., 2020).

Las ranas de cristal colocan sus huevos en hojas o rocas ubicadas en los márgenes o sobre riachuelos y los renacuajos, durante su desarrollo larval, pueden ser exotróficos, lóticos y madriguera/fosorial (Delia et al., 2010; Duellman & Trueb, 1986). A pesar de conocerse los hábitos reproductivos y aspectos de la ecología larval, se conoce únicamente la morfología larval de 12 especies en el Ecuador (Starrett, 1960; Duellman, 1978; Hero, 1990; Rueda-Almonacid, 1994; Ibáñez et al., 1999; Hoffman, 2004; Terán-Valdez et al., 2009; Terán-Valdez et al., 2014).

Rulyrana mcdiarmidi es una especie que habita en los bosques montanos y piemontanos del centro-sur de la vertiente oriental de Ecuador, con un registro en el norte de Perú (Cisneros-Heredia et al., 2008; Guayasamin et al., 2020; Ron et al., 2022). Sin embargo, la ontogenia y morfología de sus renacuajos, no se ha descrito aún para ninguna de las seis especies conocidas del género.

En este trabajo se describe la larva de *R. mcdiarmidi*, rescatada junto con otros anfibios del área de influencia del proyecto minero “Mirador” (ECSA, 2022) en el sur oriente del Ecuador y mantenidas bajo cuidado humano en el Centro de Conservación de Anfibios AMARU, en la ciudad de Cuenca, Ecuador. Se brinda información sobre su reproducción y variación ontogénica, así como el proceso de acondicionamiento y enriquecimiento que se implementó para lograr el desarrollo de esta especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los parentales se extrajeron del área de influencia del proyecto minero “Mirador”, parroquia Tundayme (3.56949 S, 78.4328 W, 1,200 m s.n.m.), cantón Pangui, provincia Zamora Chinchipe, Ecuador, el 29 de abril de 2014 por Raquel Betancourt (Fig. 1). El área de recolección corresponde a una quebrada con abundantes rocas y vegetación arbustiva dentro de un bosque montano oriental.

Utilizamos los individuos recolectados en el programa de rescate de flora y fauna del proyecto Mirador-ECSA, ejecutado por la Corporación Senderos y depositados en las instalaciones del Centro de Conservación de Anfibios AMARU (CCA), Cuenca, Ecuador, en mayo de 2014.

Manejo *ex situ*. Cuatro ejemplares (♀ = 2, ♂ = 2) mantenidos en un paludario (Dimensiones: largo = 79cm, ancho = 40cm, alto = 38cm) con sistema de aspersión automatizado configurado tres aspersiones al día. La zona terrestre enriquecida con espacios para percha, ocultamiento y alimentación mediante la incorporación de hojas secas, plantas y varias rocas; cuenta con una roca plana que se extiende sobre la sección inundada a 10 cm de la superficie del agua. Zona acuática (dimensiones: largo = 39cm, ancho = 32cm, profundidad = 17cm) con un volumen de 21.2 litros a 22°C, con rocas desinfectadas previamente con cloruro de benzalconio al 3%. La sección inundada cuenta con un sistema de filtrado y bombeo de agua que actúa como suministro de oxígeno y recirculador, se reemplazó diariamente el 25% de la porción de agua con agua previamente tratada.

Se alimentaron a los individuos adultos con invertebrados (*Acheta domesticus*, *Zophoba morio*, *Tenebrio molitor* y *Galeria mellonella*), criados en los bioterios del Centro de Conservación de anfibios Amaru. El alimento se administró tres veces por semana, alternando el tipo de invertebrado en cada suministro. Se alimentaron a los renacuajos con un suplemento alimenticio en forma de pasta que se untó sobre una roca porosa, cuatro veces por semana.

Descripción del renacuajo. Aleatoriamente se seleccionaron individuos en las etapas 32, 39, 40, 41 y 42 de Gosner y se sacrificaron en una solución de benzocaína al 2%, se fijaron en formaldehído 10%, preservados en alcohol 70% y se depositaron en el Museo Centro de Conservación (CCM) del Bioparque Amaru (lote CCM- A0567). Para la descripción se usó un individuo en etapa Gosner 32 (CCM-A0569). Se generó una tabla de datos morfológicos con todos los renacuajos preservados en la colección del Bioparque Amaru que provienen de los mismos parentales, pero en diferentes puestas (lotes CCM-A0567 y CCM-A0568) con un total de 21 individuos.

La terminología sigue a McDiarmid & Altig (1999) y Terán-Valdez & Guayasamin (2014). Las medidas, en mm, se tomó con un calibrador digital Caliper (resolución ± 0.01) y redondeadas al 0.1 más cercano. Los caracteres merísticos fueron: **TL** = longitud total (distancia desde la punta del hocico hasta la punta de la cola); **BL** = longitud del cuerpo (distancia desde la punta del hocico hasta el comienzo de la musculatura caudal); **TAL** = longitud de la

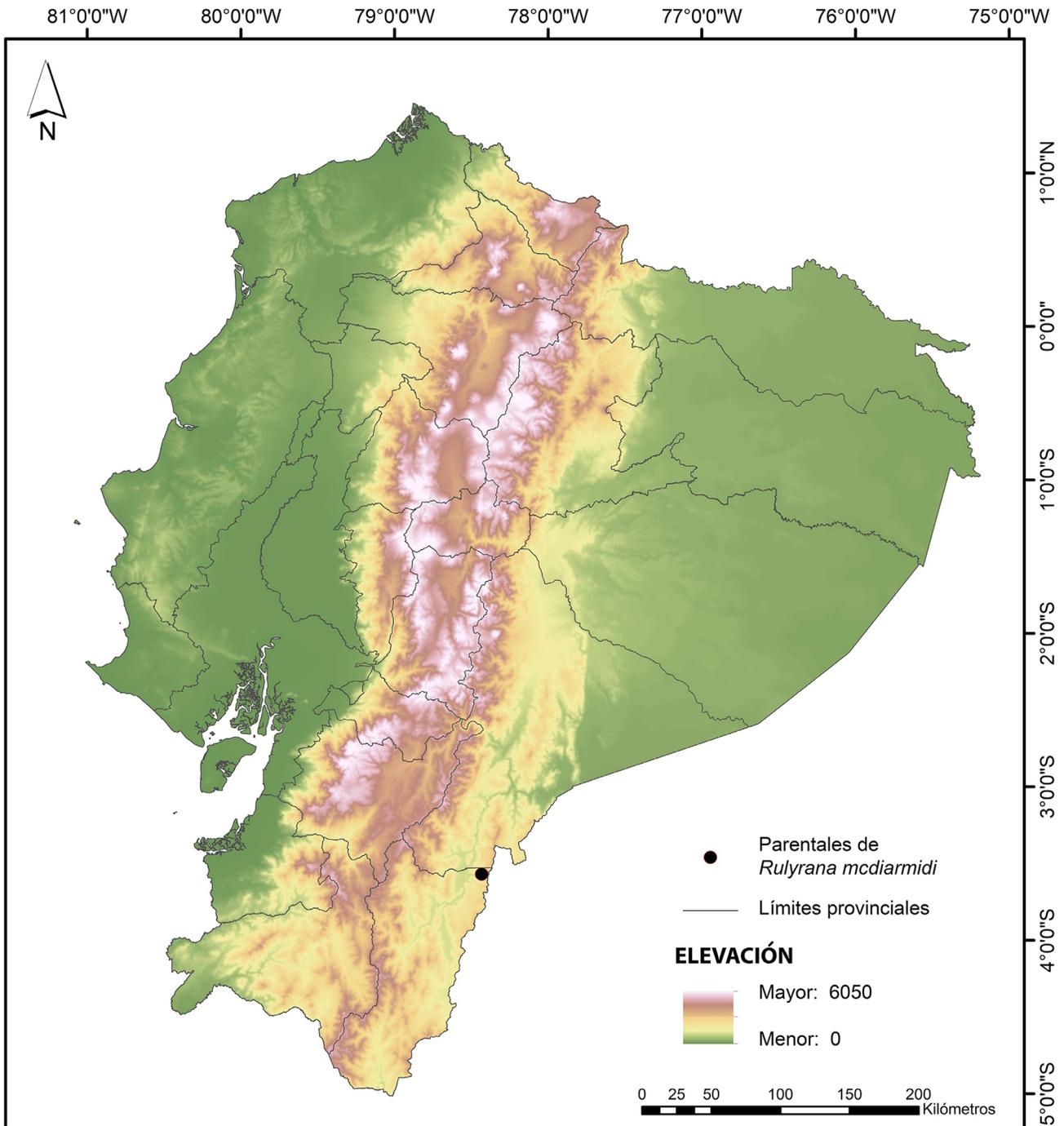


Figure 1. Location map of the collected parents of *Rulyrana mcdiarmidi* on canton El Pangui, Zamora Chinchipe, Ecuador.

Figura 1. Mapa de ubicación de los parentales recolectados de *Rulyrana mcdiarmidi* en el cantón El Pangui, Zamora Chinchipe, Ecuador.

cola (distancia desde el comienzo de la musculatura caudal hasta punta de la cola); **BW** = ancho del cuerpo (ancho del cuerpo en el nivel del espiráculo); **BH** = altura del cuerpo (altura del cuerpo detrás de los ojos); **IND** = distancia internarinal (distancia entre

los centros de las aperturas nariales); **NSD** = distancia fosa nasal-hocico (distancia entre el centro de la fosa nasal y la punta del hocico); **NED** = distancia fosa nasal-ojo (distancia entre centro de la abertura de la fosa nasal hasta el borde anterior del ojo);

IOD = distancia interorbital (distancia entre el borde interno de los ojos); **SAD** = diámetro de la apertura del espiráculo; **SSD** = distancia espiráculo-hocico (distancia entre la punta del hocico y borde posterior del espiráculo); **ESD** = distancia ojo-hocico (distancia entre la punta del hocico y borde más anterior del ojo); **MTH** = altura máxima de la cola (altura de la cola, incluidas las aletas, donde la cola alcanza su altura máxima); **TMH** = altura del músculo de la cola (altura de la musculatura caudal al comienzo de la cola); **TMW** = ancho del músculo de la cola (ancho del músculo en el comienzo de la cola); **DFH** = altura de la aleta dorsal (altura máxima de la aleta dorsal); **VFH** = altura de la aleta ventral (altura máxima de la aleta ventral); **ODW** = ancho del disco oral (diámetro transversal de disco oral); **VJW** = ancho de la vaina de la mandíbula superior; **LJW** = anchura de la vaina de la mandíbula inferior; **VTL** = longitud del tubo cloacal (distancia

entre comienzo del tubo cloacal y su apertura); **VTW** = ancho del tubo cloacal (ancho transversal del tubo cloacal).

El desarrollo ontogenético se documentó desde el día de la puesta hasta la terminación de la metamorfosis, y se cuantificaron los tiempos entre las diferentes etapas de desarrollo. Para describir la coloración en las diferentes etapas de desarrollo se hizo un registro fotográfico de los individuos. Adicionalmente, se contabilizó el número de embriones en las diferentes puestas.

RESULTADOS

El 17 de marzo 2022, a las 16:00 h se observó una pareja en amplexus, los individuos estuvieron perchados cerca de la roca

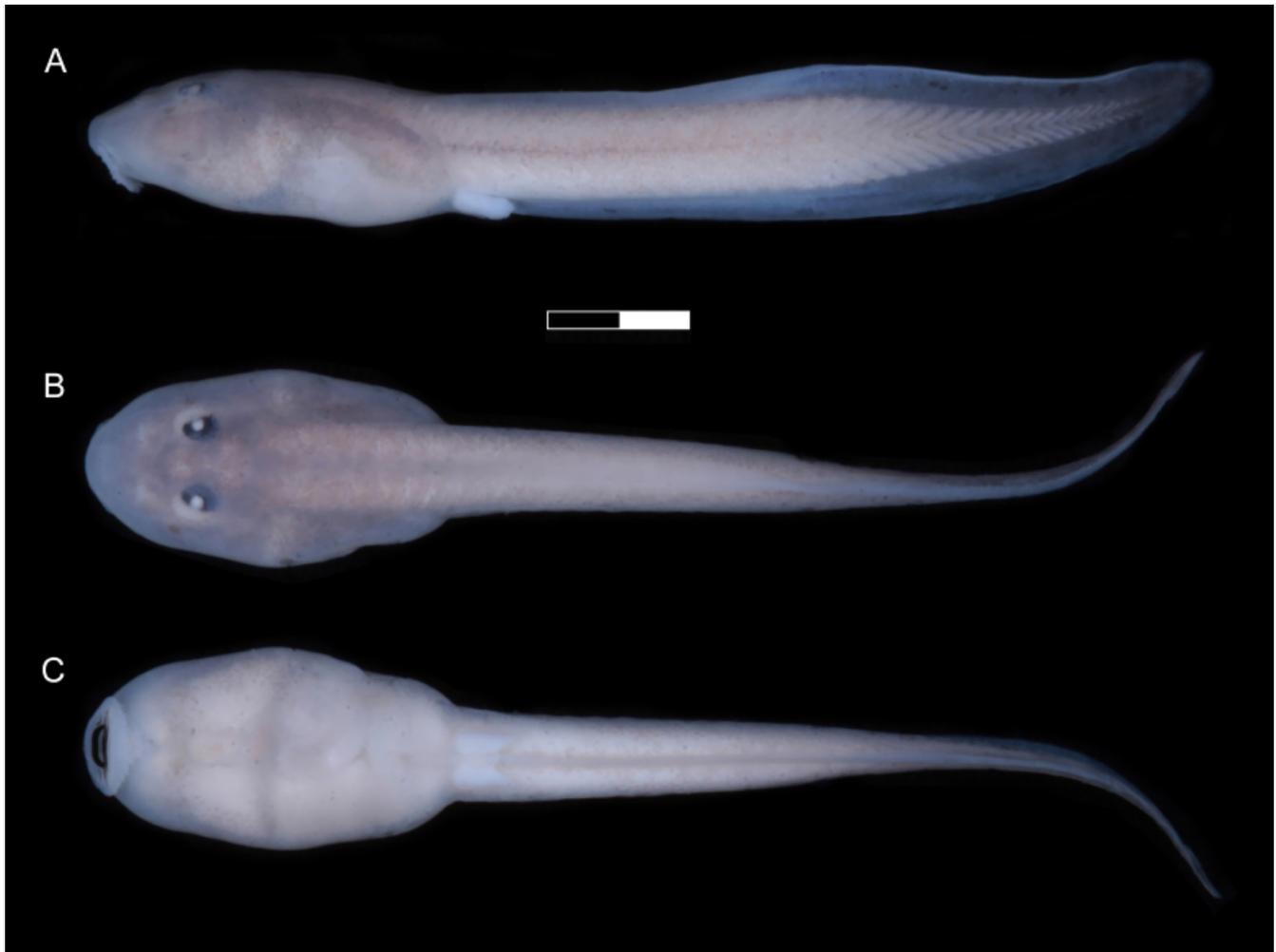


Figure 2. Photographs of preserved tadpole of *Rulyrana mcdiarmidi* (CCM-A0569). A. lateral view, B. dorsal view, C. dorsal view. Scale = 4mm. Photos: Juan Carlos Sánchez N.

Figura 2. Fotografías del renacuajo preservado de *Rulyrana mcdiarmidi* (CCM- A0569). A. vista lateral, B. vista dorsal, C. vista ventral. Escala = 4mm. Fotos: Juan Carlos Sánchez N.

plana, sin alejarse de esta ubicación con escasos desplazamientos. Durante la noche a las 23:00 h aproximadamente la puesta fue depositada debajo de la roca ubicada a 10 cm de la superficie del agua. La puesta contenía 96 embriones y durante 12 días el macho se mantuvo a 5 cm de la puesta. Las larvas se liberaron a partir del día 15 después de la puesta y continuó por tres días.

Descripción del renacuajo. CCM-A0569, cuerpo alargado, mucho más largo que ancho, extremo posterior menos ancho que el extremo anterior; BL 33.8% de TL; hocico redondeado en vistas dorsal y lateral; IND 45.5% mayor que IOD; narinas situadas antero dorsalmente entre la punta del hocico y el ojo; espiráculo corto (9.6% de BL), único, ubicado desde la punta del hocico a 72.2% de TL, al lado izquierdo en la región posterolateral del cuerpo, apertura del espiráculo con orientación dorso posterior; tubo cloacal corto, abdominal y medial; cola larga y robusta con punta subaguda (67.7% de BL); miotomas visibles en toda la longitud de la cola; línea medial recta visible, separando los miotomas dorsales y ventrales; aleta dorsal y ventral se originan en la superficie y base respectivamente del músculo de la cola, alcanzan su altura máxima después de la mitad de la longitud de la cola (Fig. 2); el extremo distal caudal agudo menor de 30°; disco oral mediano (43.4% de BW), región anteroventral, rodeada de

28 papilas con brechas amplias, regiones laterales con brechas estrechas; configuración de fila sencilla y alineada; vainas de la mandíbula superior lineales con bordes obtusos (longitud = 1.1mm), con 29 dientes; vaina de la mandíbula inferior en forma de U (longitud = 0.7 mm), con 32 dientes, ambas vainas completamente queratinizadas; VJW 41.6% de DDW; LJW 27.3% de DDW; fórmula de dientes labiales 2(2)/3; fila de dientes A-1 = 1.8 mm de largo; fila de dientes A-2 interrumpida por la vaina de la mandíbula superior, lado derecho = 0.4 mm, lado izquierdo = 0.3 mm; fila de dientes P-1 = 2.1 mm; fila de dientes P-2 = 1.8 mm; fila de dientes P-3 1.1 mm.

Medidas del renacuajo (mm). LT = 33.4, BL = 10.8, TAL = 22.6, BW = 6.2, BH = 3.6, IND = 2.0, NSD = 1.7, NED = 1.0, IOD = 1.3, SAD = 0.6, SSD = 8.2, ESD = 3.2, MTH = 4.0, TMH = 2.4, TMW = 3.1, DFH = 0.9, VFH = 0.8, DDW = 2.7, VJW = 1.1, LJW = 0.7, VTL = 1.2, VTW = 0.5.

Color en vida. Las superficies lateral y ventral del cuerpo son translúcidas; el dorso presenta un patrón de aspecto escamado, ocre rojizo desde la boca hasta el espiráculo y gris desde el espiráculo hacia la cloaca; un patrón de puntos grises más oscuros que el dorso se agrupan en la zona lateral que se vuelven



Figure 3. Tadpoles of *Rulyrana mcdiarmidi* lateral view. A. stage 35 in life, B. stage 39 preserved (CCM-A0567). Scale = 4mm. Photos: Jaime Culebras and Juan Carlos Sánchez N.

Figura 3. Renacuajos de *Rulyrana mcdiarmidi* vista lateral. A. etapa 35 en vida, B. etapa 39 preservado (CCM-A0567). Escala = 4mm. Fotos: Jaime Culebras y Juan Carlos Sánchez N.

difusos en la zona ventral. En vista ventral se distinguen los intestinos color crema a verde, corazón rojo intenso; la región branquial es rosa. Algunos individuos muestran un patrón dorado difuso en la parte ventral. La región bucal es de color blanco translucido, se pueden distinguir completamente las filas de los dientes inferiores. La cola presenta un color gris claro, con aletas dorsal y ventral traslúcidas (Fig. 3A).

Color en preservación. El dorso y la cola permanecen con el color gris claro y las aletas dorsal y ventral se vuelven parcialmente opacas. La zona ventral cambia a una crema blanquecina (Fig. 3B).

Notas del desarrollo ontogénico. Todas las puestas (n = 5), fueron depositadas en horas de la noche debajo de una roca plana que se encuentra sobre la superficie del agua, con 89 a 120 embriones por puesta ($\bar{X}=98.8, \sigma=14.3$). Los huevos son esféricos, presentan una coloración gris claro pálido con un borde oscuro, en algunas ocasiones se han observado embriones bicolores que combina un gris claro con otro oscuro y completamente blancos

(≈gris pálido = 82.2%, bicolor = 15%, blancos = 2.8%) (Fig. 4). Los embriones, dentro de la puesta, llegan a la etapa 17 de Gosner en 4 días donde se observa el primer movimiento sincrónico.

A los 15 días (etapa 25 de Gosner) los primeros embriones eclosionan y comienzan su vida libre, sin embargo, no todos eclosionan simultáneamente, se observó que los últimos embriones eclosionaron 3 días después de los primeros. Los datos de morfometría de los renacuajos se presentan en la Tabla 1. Desde la etapa 25 a 28 se observa un incremento de TL y este proceso llega a tardar aproximadamente 24 días. Las etapas posteriores llegan a tomar hasta cuatro días por cada etapa de desarrollo. Los individuos alcanzaron su tamaño máximo en la etapa 39, a partir de este punto TL comienza a decrecer (Fig. 5). Las almohadillas digitales de las extremidades posteriores se desarrollan en la etapa 39 (Fig. 3B), mientras que, para los dígitos de los miembros anteriores se desarrollan en la etapa 40, antes de que las extremidades se liberen del cuerpo del renacuajo (Fig. 6). La morfología general se modifica a partir de la etapa 41, el hocico se vuelve truncado y los ojos se observan totalmente



Figure 4. Clutch with 122 *Rulyrana mcdiarmidi* eggs. Photography: Fausto Siavichay. / **Figura 4.** Masa con 122 huevos de *Rulyrana mcdiarmidi*. Fotografía: Fausto Siavichay.

Table 1. Averaged tadpole dimensions of *Rulyrana mcdiarmidi*. Measurement abbreviations: **LT** = Total length, **BL** = Body length, **TAL** = tail length, **BW** = body width, **BH** = Body height, **IND** = internarial distance, **NSD** = Nostril-snout distance, **NED** = Nostril-eye distance, **IOD** = interorbital distance, **SAD** = Spiracle aperture diameter, **SSD** = spiracle-snout distance, **ESD** = Eye-snout distance, **MTH** = Max tail height, **TMH** = Tail muscle height, **TMW** = Tail muscle width, **DFH** = Dorsal fin height, **VFH** = Ventral fin height, **ODW** = Oral disc width, **VJW** = upper jaw sheath width, **LJW** = lower jaw sheath width, **VTL** = vent tube length, **VTW** = vent tube width.

Tabla 1. Dimensiones promediadas de renacuajos de *Rulyrana mcdiarmidi* en 11 etapas Gosner. Abreviaciones de medidas: **TL** = longitud total, **BL** = longitud del cuerpo, **TAL** = longitud de la cola, **BW** = ancho del cuerpo, **BH** = altura del cuerpo, **IND** = distancia internarial, **NSD** = distancia fosa nasal-hocico, **NED** = distancia fosa nasal-ojo, **IOD** = distancia interorbital, **SAD** = diámetro de la apertura del espiráculo, **SSD** = distancia espiráculo-hocico, **ESD** = distancia ojo-hocico, **MTH** = altura máxima de la cola, **TMH** = altura del músculo de la cola, **TMW** = ancho del músculo de la cola, **DFH** = Altura de la aleta dorsal, **VFH** = Altura de la aleta ventral, **ODW** = ancho del disco oral, **VJW** = ancho de la vaina de la mandíbula superior, **LJW** = anchura de la vaina de la mandíbula inferior, **VTL** = longitud del tubo cloacal, **VTW** = ancho del tubo cloacal.

Etapa	26	27	29	32	34	35	36	37	39	41	42
Nº	2	1	1	1	1	5	1	1	1	3	4
TL	22.4 ± 0.6	28.6	31.0	33.4	32.2	31.6 ± 1.9	34.8	34.9	35.8	32 ± 2.8	29.1 ± 3
BL	8.2 ± 2.5	8.7	10.2	10.8	10.4	9.9 ± 0.7	9.6	10.8	11.6	9.9 ± 0.5	10.1 ± 1
TAL	15.8 ± 0.9	20.0	20.8	22.6	20.8	21.9 ± 1.9	25.3	23.7	24.2	22 ± 3.1	19 ± 2.26
BW	3.6 ± 1.5	4.9	5.5	6.2	5.4	4.9 ± 0.3	5.6	5.4	6.1	5.1 ± 0.1	4.2 ± 0.9
BH	2.3 ± 0.7	3.0	3.2	3.6	4.4	3.5 ± 0.6	3.3	3.8	4.7	3.2 ± 0.3	3 ± 0.1
IND	1.1 ± 0.4	1.5	1.9	2.0	1.9	1.9 ± 0.2	1.9	1.9	1.2	1.2 ± 0.1	1.1 ± 0.1
NSD	1.1 ± 0.2	1.3	1.4	1.7	1.8	1.6 ± 0.2	1.2	1.6	2.2	1.4 ± 0.2	1.2 ± 0.4
NED	0.5 ± 0.1	0.5	0.9	1.0	0.8	0.8 ± 0.1	1.5	9.9	0.8	1 ± 0.3	0.9 ± 0.2
IOD	0.9 ± 0.2	1.2	1.0	1.3	1.4	1.4 ± 0.2	1.2	1.1	1.6	1.3 ± 0.2	1.6 ± 0.3
SAD	0.4 ± 0.1	0.4	0.7	0.5	0.7	0.5 ± 0.1	0.5	0.6	1.0	-	-
SSD	5.2 ± 1.5	6.0	7.7	8.2	7.4	7.7 ± 0.5	8.3	8.1	8.4	-	-
ESD	1.6 ± 0.01	2.2	2.4	3.2	2.9	2.7 ± 0.2	2.4	3.0	3.0	2.6 ± 0.4	2.4 ± 0.2
MTH	3.3 ± 0.1	3.3	3.9	4.0	3.6	4 ± 0.3	5.4	4.2	5.6	3.6 ± 0.2	2.7 ± 0.5
TMH	1.8 ± 0.3	2.2	2.8	2.4	2.6	2.5 ± 0.1	3.1	2.1	3.2	2.4 ± 0.4	2 ± 0.5
DDW	1.7 ± 0.6	2.2	2.6	2.7	2.3	2.7 ± 0.3	2.6	2.5	2.4	2.4 ± 0.1	1.7 ± 0.2
VTL	0.5 ± 0.1	1.4	1.3	1.2	1.2	1.2 ± 0.2	0.5	0.6	0.8	-	-
VTW	0.4 ± 0.1	0.5	0.4	0.5	0.5	0.4 ± 0.1	0.3	0.5	0.2	-	-

desarrollados, con la pupila horizontal; el cuerpo se ensancha en un 8% y los miembros anteriores están visibles bajo la piel. Las primeras larvas completaron su desarrollo desde su eclosión hasta emerger del agua (etapa 42 de Gosner) en aproximadamente 80 días. Las larvas no emergen sincrónicamente, algunas llegan a tardar hasta 28 días.

La coloración de los renacuajos entre las etapas 25 a 28 es gris oscuro hacia el dorso y traslúcido hacia el vientre, la cola también es gris oscuro con algunos puntos gris pálidos dispersos en los extremos de la cola (Fig. 7A). Desde la etapa 28 hasta 40, gris

claro a ocre rojizo dorsalmente y gris claro uniforme en la cola (Fig. 7B). En la etapa 40 se torna amarillo verdoso con puntos amarillentos difusos en el dorso y puntos pequeños oscuros dispersos en el dorso y extremidades, la parte de la cola presenta partes doradas escarchadas (Fig. 7C).

Finalmente, luego de emerger del agua completan su metamorfosis (etapa 46 de Gosner) a los 12 días (Fig. 8). La primera generación alcanzó la madurez sexual a los 23 meses y tuvieron su primera puesta fértil el 09 de junio de 2023.

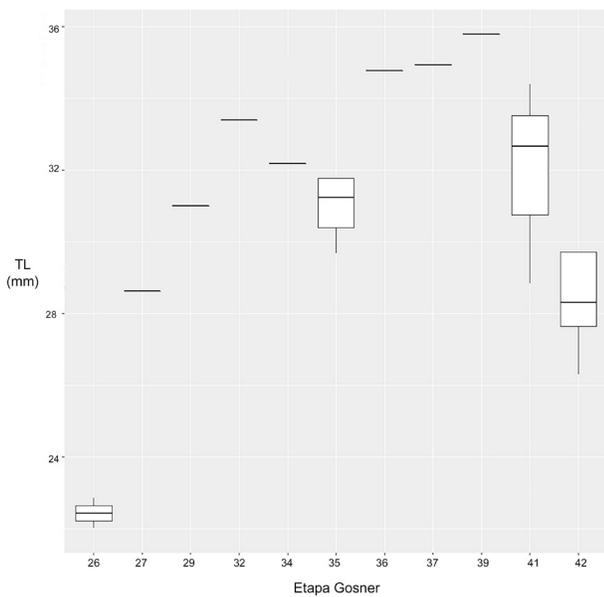


Figure 4 (Left). Box plot of total length (TL) of *Rulyrana mcdiarmidi* tadpoles, maximum total length in Gosner stage 39. A variation of data is observed in Gosner stages 26, 35, 41 and 42.

Figura 4 (Izquierda). Diagrama de cajas sobre datos de longitud total (TL) de renacuajos de *Rulyrana mcdiarmidi*, longitud total máximo en etapa Gosner 39. Se observa una variación de datos en etapas Gosner 26, 35, 41 y 42.

DISCUSIÓN

Descripciones en etapas tempranas de renacuajos y la escasa de información sobre la morfología y ontogenia en centrolenidos, dificulta hacer una comparación entre especies. A pesar de que características morfológicas de disco oral, espiráculo, tubo cloacal y patrones de coloración facilitan la identificación de especies, la variación interespecífica en las diferentes etapas de desarrollo no ha sido totalmente documentada impidiendo realizar una adecuada identificación comparativa (Altig & Johnston 1989; Castillo-Trenn 2004; Rada et al., 2007).



Figure 6. Photograph of preserved Gosner stage 40 *Rulyrana mcdiarmidi* tadpole showing the digital pads on the forelimbs before the limbs are released from the larval body. Photo: Juan Carlos Sánchez N.

Figura 6. Fotografía de un renacuajo de *Rulyrana mcdiarmidi* preservado en etapa 40 de Gosner donde se observa las almohadillas digitales en las extremidades anteriores antes de que los miembros se liberen del cuerpo de la larva. Foto: Juan Carlos Sánchez N.

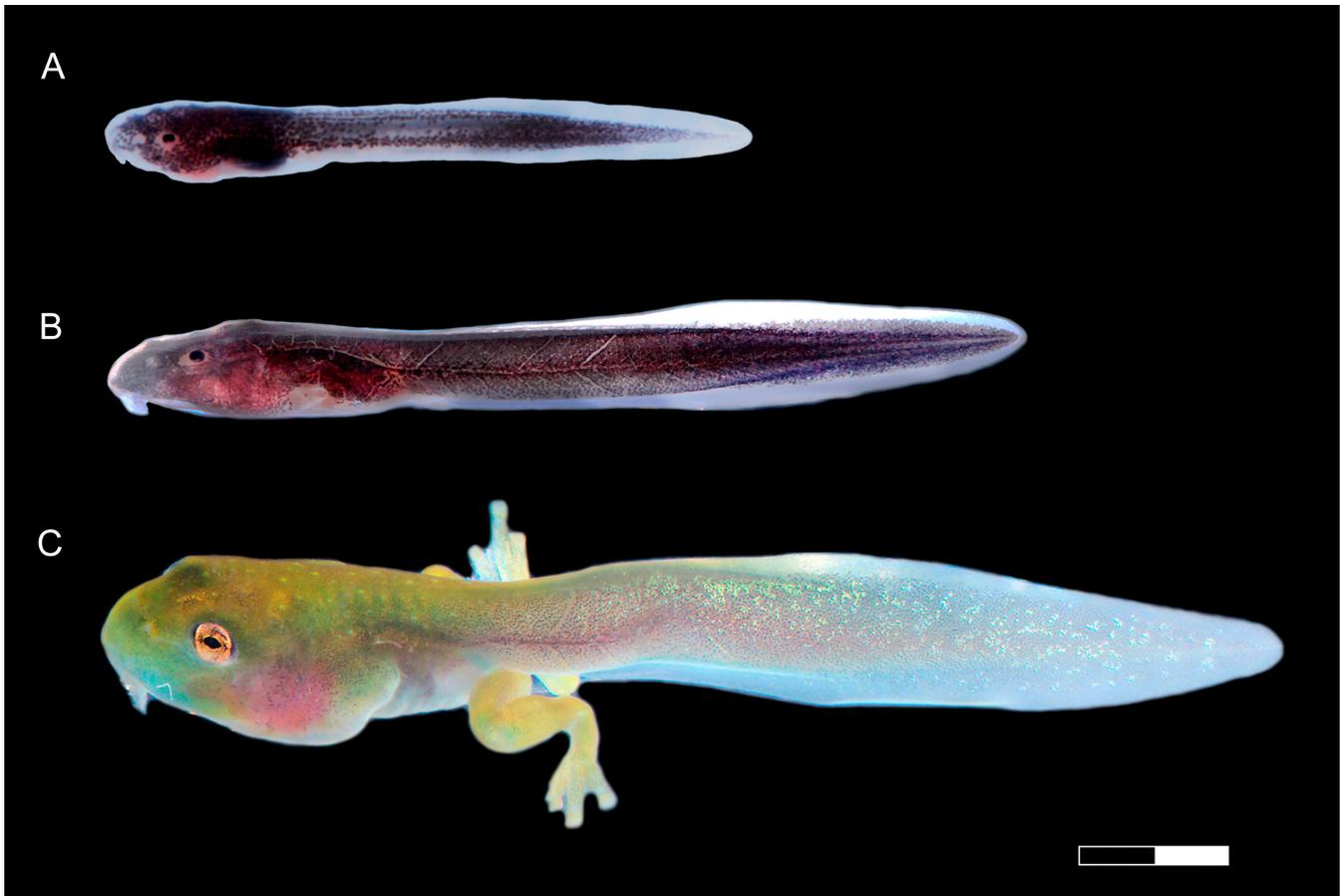


Figure 7. Tadpole ontogeny of *Rulyrana mcdiarmidi* in life A. stage 25, B. stage 28, C. stage 41. Scale = 4mm. Photos: Juan Carlos Sánchez N.

Figura 7. Ontogenia de renacuajos de *Rulyrana mcdiarmidi*. A. etapa 25, B. etapa 28, C. etapa 41. Escala = 4mm. Fotos: Juan Carlos Sánchez N.

La descripción del renacuajo de *R. mcdiarmidi* es la primera de su género. La fórmula dentaria 2(2) /3, igual a *Cochranella resplendens* y *Hyalinobatrachium aureoguttatum* a diferencia de *Centrolene daidalea* 2/2, *Chimerella mariaelenae* 2(1)(2) /3 y *Hyalinobatrachium ibama* 2/3. Sin embargo, en *R. mcdiarmidi* la dentición larval se encuentra totalmente desarrollada en etapas 27–38, sin observarse en etapas previas y perdiéndose en etapas posteriores, a partir de la etapa 39 la fila A-1 comienza a desaparecer, seguido de P-3, tal es el caso de *Hyalinobatrachium ibama*, que después de la etapa 31, la hilera de dientes P-3 tiende a desaparecer (Rada et al., 2007; Terán-Valdez et al., 2009; Terán-Valdez & Guayasamin, 2014).

El disco oral de *R. mcdiarmidi* presenta brechas amplias y estrechas, se ubica en la región anteroventral, con una fila de dientes (A-2) interrumpida por la vaina de la mandíbula superior, estas características se asemejan más a *Espadarana prosoblepon*,

Chocranella granulosa e *H. fleischmanni* (Starrett, 1960). Sin embargo, esta morfología se describe en la etapa Gosner 32 para *R. mcdiarmidi*, mientras que para las especies mencionadas se desconoce la etapa en las que se describieron. Se observa que existen variaciones en el tamaño y forma de las papilas, volviéndose más notorias en etapas desarrollo avanzados por lo que existen limitantes para realizar comparaciones entre especies.

Rulyrana mcdiarmidi presenta un tubo cloacal corto, al igual que *Centrolene andinum*, *C. buckleyi*, *C. daidalea*, *C. hybrida*, *Cochranella pulverata*, y *C. resplendens* (Rada et al., 2007). Gosner (1960) informa que el tubo cloacal desaparece en la etapa 41 o después, condición que sí se presenta en *R. mcdiarmidi* en la etapa 41. Sin embargo, esta característica del tubo cloacal varía entre especies desapareciendo en etapas más tempranas (Fabrezi & Quinzio, 2008; Terán-Valdez & Guayasamin, 2014).

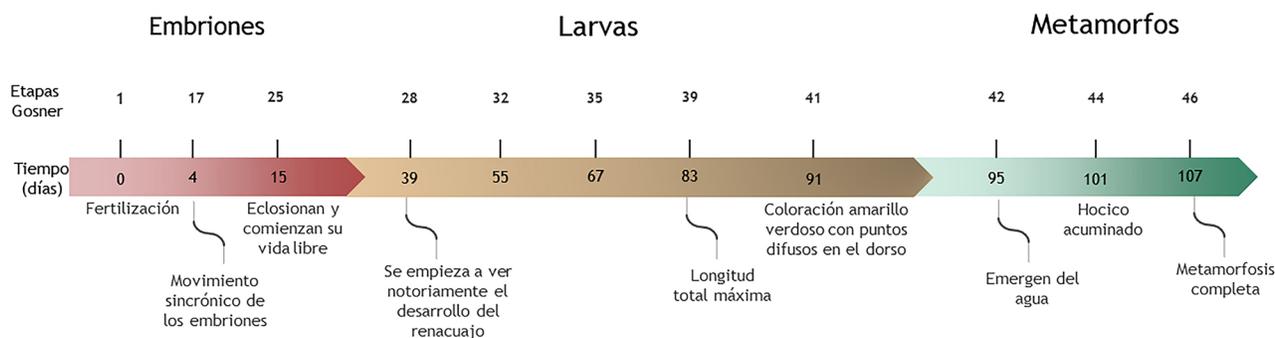


Figure 8. Línea de tiempo en días desde la fertilización de los huevos hasta completar la metamorfosis de los renacuajos de *Rulyrana mcdiarmidi*. Los números superiores corresponden a las etapas Gosner. La gama escarlata corresponde al desarrollo embrionario, desde su fertilización hasta su eclisión. La gama marrón corresponde al desarrollo larval, desde su comienzo en vida libre hasta que emergen del agua. La gama esmeralda corresponde a los metamorfos, desde su vida fuera del agua, hasta que pierden completamente la cola.

Figura 8. Time line in days from the fertilization of the eggs to the completion of the metamorphosis of tadpoles *Rulyrana mcdiarmidi*. The numbers at the top correspond to the Gosner stages. The scarlet spectrum corresponds to embryonic development, from fertilization to hatching. The brown spectrum corresponds to larval development, from their beginning in free life until it emerges from the water. The emerald spectrum corresponds to metamorphs, from their life out of water, until completely losing the tail.

A partir de la etapa 28, *R. mcdiarmidi* presenta un color dorsal gris claro con ocre rojizo, similar con *C. andinum*, *Centrolene buckleyi*, *C. mariaelena*, *Espadarana prosoblepon* e *Hyalinobatrachium fleischmanni* (Starrett, 1960; Villa & Valerio, 1982; Savage, 2002; Terán-Valdez & Guayasamin, 2014). Esto se debe a su piel vascularizada por tener hábitos fosoriales y se expresa de acuerdo a la disponibilidad del oxígeno (McDiarmid & Altig, 1999), condición que puede variar bajo *ex situ* (Rada et al., 2007) y explica la variación registrada en los ejemplares estudiados.

Las variaciones de coloración de los huevos no son producto de las primeras etapas de embriogenia, esta diferencia de color de los huevos se presenta desde la primera etapa de fertilización. Se ha observado también que el 2.8% de los huevos con coloración blanca llegan a ser infértiles, puesto a que no se observa ningún cambio y se observa la presencia de hongos, mientras que, el resto continúa su desarrollo embrionario con normalidad.

El proceso de metamorfosis de *R. mcdiarmidi* se completó en un periodo de tres meses (95–97 días), con variaciones notorias de tamaño en las etapas 26, 35, 42 de Gosner. Este tiempo y variabilidad se asocian con la disponibilidad y contenido nutricional del alimento durante su cuidado. La Marca & Castellanos (2018), establece que, el alimento ofrecido a renacuajos debe contener calcio, magnesio, fósforo y potasio, necesarios para el desarrollo óseo y mantenimiento de tejidos, combinados con vitaminas A, B1, B2, B3, B5, B7, B12, C, D y E, que permiten sintetizar y metabolizar carbohidratos, proteínas grasas, que influyen en la construcción de la masa muscular y

huesos, permitiendo el crecimiento de células y membranas. Rada (2007) reporta un periodo superior a cinco meses, desde la eclisión hasta la metamorfosis de *C. daidalea* y *H. ibama*. Las diferencias en los tiempos de desarrollo pueden ser específicos para cada especie, sin embargo, durante este estudio, se observó que, los individuos cambian sus preferencias alimenticias a lo largo de su desarrollo larval, siendo el requerimiento proteico más alto en las últimas etapas larvales, por lo que, el tiempo de desarrollo y el tiempo en la transición entre etapas de desarrollo, parece depender de las condiciones que permitan obtener los recursos nutritivos adecuados.

CONCLUSIÓN

Mantener especies de anfibios *ex situ* permite identificar aspectos relevantes en el comportamiento y la morfología, como es el caso de *R. mcdiarmidi* donde se logró documentar el desarrollo larval y ontogenia por primera vez. El desarrollo larval bajo cuidado humano y la supervivencia va a depender de las exigencias de las especies y técnicos de laboratorio. Por lo que, generar esta información in-situ nos permitiría determinar variaciones de tamaños y tiempo de las larvas. Implementar protocolos de cuidado y reproducción de *R. mcdiarmidi* abre la posibilidad de incluir otras especies del género, para conocer los hábitos reproductivos y aspectos de la ecología larval de las especies del género *Rulyrana* que aún no han sido identificadas, y de esta manera promover su conservación. Finalmente, la dieta de las larvas requiere un mayor análisis bromatológico para que se pueda afinar el protocolo a las necesidades de la especie según su etapa larval.

Agradecimientos.— Los autores agradecen a Raquel Betancourt por el trabajo en campo y movilización de los ejemplares al Centro de Conservación de Anfibios Amaru. Al Zoológico de Filadelfia en EEUU por financiar la conservación *ex situ* de las especies amenazadas del Sur del Ecuador, particularmente a Vikram Dewan, Rachel Metz, Lauren Augustine. Al arca de anfibios “Amphibian Ark” por su financiamiento en la implementación de equipos de laboratorio. A Melissa Vanegas por su aporte en la parte estadística de la investigación. A Carolina Bonete por su ilustración digital de la morfología bucal. A Jaime Culebras por su ayuda en la fotografía de los especímenes vivos. A la Fundación AMARU, Ernesto Arbeláez, Victoria Arbeláez, Amanda Vega. A las personas que apoyaron con su trabajo, experiencia y conocimientos en las diferentes etapas del mantenimiento y alimentación Nohemí Torres, Kim Leggel, Carlos Martínez, Juan Fajardo, Fernando Juela, Jazmín Salazar, Blake Klocke, Erica Graber, estudiantes y voluntarios. Este trabajo fue realizado gracias al programa de rescate de flora y fauna en el proyecto Mirador-ECSA ejecutado por la Corporación Senderos bajo el permiso de recolección MAE-DNB-2014-0158 y Permiso de movilización de especímenes de flora y Fauna silvestre MAE-DPAZCH-2014-0978. Todos los procedimientos siguieron las directrices y normas éticas del Centro de Conservación de Anfibios y Bioparque Amaru para el manejo de especímenes bajo cuidado humano.

LITERATURA CITADA

- Altig, R. & G.F. Johnston. 1989. Guilds of anuran larvae: relationships among developmental modes, morphologies, and habitats. *Herpetological Monographs* 3:81-109.
- Castillo-Trenn, P. 2004. Description of the tadpole of *Colostethus kingsburyi* (Anura: Dendrobatidae) from Ecuador. *Journal of Herpetology* 38:600-606.
- Cisneros-Heredia, D.F., P.J. Venegas, M. Rada, & R. Schulte. 2008. A new species of glassfrog (Anura: Centrolenidae) from the foothill Andean forests of Ecuador and Peru. *Herpetologica* 64:341-353.
- 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.
- Duellman, W.E. 1978. The biology of an equatorial herpetofauna in Amazonian Ecuador. *Museum of Natural History Miscellaneous Publications, University of Kansas* 65:1-352.
- Duellman, W.E., & L. Trueb. 1986. *Biology of Amphibians*. McGrawHill, New York 672 pp.
- Ecuacorriente S.A. 2001 <http://www.ecsa.com.ec>. [Consultado en febrero 2022]
- Fabrezi, M., & S.L. Quinzio. 2008. Morphological evolution in Ceratophryinae frogs (Anura, Neobatrachia): the effects of heterochronic changes during larval development and metamorphosis. *Zoological Journal of the Linnean Society* 154:752-780.
- Frost, D.R. 2023. *Amphibian Species of the World: an Online Reference*. Version 6.1. <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA. [Consultado en febrero 2022]
- Gosner, K.L. 1960. A simplified table for starging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16:183-190.
- Guayasamin, J.M., D.F. Cisneros-Heredia, R.W. McDiarmid, P. Peña, & C.R. Hutter, C.R. 2020. Glassfrogs of Ecuador: diversity, evolution, and conservation. *Diversity* 12:222.
- Guayasamin, J.M., R. Brunner, A. Valencia-Aguilar, D. Franco-Mena, E. Ringler, A. Armijos, C. Morochz, L. Bustamante, R. Maynard, & J. Culebras, J. 2022. Two new glassfrogs (Centrolenidae: *Hyalinobatrachium*) from Ecuador, with comments on the endangered biodiversity of the Andes. *PeerJ* 10:e13109.
- Hero, J.M. 1990. An illustrated key to tadpoles occurring in the Central Amazon rainforest, Manaus, Amazonas, Brasil. *Amazoniana* 11:201-262.
- Hoffman, H. 2004. Description of the previously unknown tadpole *Hyalinobatrachium pulveratum* (Anura: Centrolenidae). *Revista de Biología Tropical* 56:7:1-78.
- Ibáñez-D, R., F.E. Jaramillo & C.A. Jaramillo-A. 1999. Ampliación del ámbito de distribución y descripción del renacuajo de la rana de cristal *Hyalinobatrachium aureoguttatum* (Anura: Centrolenidae). *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 45:867-870.
- La Marca, E. & M. Castellanos. 2018. Fórmula alimenticia enriquecida para criar renacuajos en cautiverio. *Aark* 17-18.
- McDiarmid, R.W. & R. Altig. 1999. *Tadpoles. The Biology of Anuran Larvae*. The University of Chicago Press, Chicago.



- Rada, M., J.V. Rueda-Almonacid, Á.A. Velásquez-Álvarez, & S.J. Sánchez-Pacheco. 2007. Descripción de las larvas de dos centrolénidos (Anura: Centrolenidae) del noroccidente de la Cordillera Oriental, Colombia. *Papéis Avulsos de Zoología* 47:259-272.
- Ron, S.R., Merino-Viteri, A. Ortiz, D.A. 2022. Anfibios del Ecuador. Version 2022. Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. <https://bioweb.bio/faunaweb/amphibiaweb> [Consultado en enero 2022].
- Rueda-Almonacid, J.V. 1994. Estudio anatómico y relaciones sistemáticas de *Centrolene geckoideum* (Salientia: Anura: Centrolenidae). *Trianea* 5:133-187.
- Savage, J. 2002. *The Amphibians and Reptiles of Costa Rica*. The University of Chicago Press 934p.
- Starrett, P.H. 1960. Description of tadpoles of Middle American frogs. *Miscellaneous Publications, Museum of Zoology, University of Michigan* 110:1-37.
- Taylor, E.H. 1951. Two new genera and a new family of tropical American frogs. *Proceedings of the Biological Society of Washington* 64:33-40.
- Terán-Valdez, A., J.M. Guayasamin, & L.A. Coloma. 2009. Description of the tadpole of *Cochranella resplendens* and redescription of the tadpole of *Hyalinobatrachium aureoguttatum* (Anura, Centrolenidae). *Phyllomedusa: Journal of Herpetology* 8:105-124.
- Terán-Valdez, A. & J.M. Guayasamin. 2014. The tadpole of the glassfrog *Chimerella mariaelenae* (Anura: Centrolenidae). *CienciAmérica: Revista de divulgación científica de la Universidad Tecnológica Indoamérica* 3:17-22.
- Villa, J. & C.E. Valerio. 1982. Red, white and brown. Preliminary observation on the color of the centrolenid tadpole (Amphibia: Anura: Centrolenidae). *Brenesia* 19:1-16.

