

# UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

*Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*



**“Propuesta de protocolo para el mantenimiento en cautiverio de la rana del Lago Titicaca (*Telmatobius culeus*) basada en experiencias previas”**

Tesis para optar el Título Profesional de:  
**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**Claudia Villalobos Carranza**  
**Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia**

**LIMA - PERÚ**

**2016**

Este trabajo está dedicado a mis padres quienes siempre me motivan para seguir adelante y tomar cada situación negativa como una oportunidad para aprender una lección.

Agradecimiento al Parque Zoológico de Huachipa y al Laboratorio de  
Vida Silvestre (UPCH) por las facilidades brindadas.  
En especial al Zoológico de Denver por el apoyo con los materiales  
necesarios.

## ABSTRACT

Nowadays, *Telmatobius culeus* is listed as Critically Endangered (CR) on the IUCN Red List of Threatened Species of the IUCN (International Union for Conservation of Nature) as well as in the national Supreme Decree N° 004-2014-MINAGRI. This species has to face several threats as habitat loss, contamination, habitat degradation, overexploitation as food source for human consumption, among others. Because of this issue, it is necessary to take some measures to stop the declining number. As an alternative to this situation rises this captive husbandry protocol proposal for *Telmatobius culeus*, which will allow having the necessary information for establishing individuals of this species in captivity if in the future, reintroduction programs are needed to be initiated or population reinforcement. For elaborating this manual, all important elements for breeding amphibians were taken in consideration. Technical visits were done to Parque Zoológico Huachipa and to Laboratorio de Vida Silvestre (FAVEZ - UPCH) for interviewing the person in charge of each place and to perform some measurements as water parameters, also, the person in charge of the collection located in Museo de Historia Natural of Cochabamba (Bolivia) was interviewed once (by internet); all these were accompanied with bibliographic information. Since this is an aquatic species, water conditions are vital, that's why in these three places water parameters are often measured. Quarantine is a critical point in captivity, correspondent medical tests and prophylactic treatments are performed. As for feeding, live food as well as pellets can be given; however, it is important to consider raise or get live food before starting the program.

Key words: *Telmatobius culeus* Critically Endangered, captivity, manual

## RESUMEN

En la actualidad, *Telmatobius culeus* se encuentra categorizada como En Peligro Crítico (CR) tanto en la Lista Roja de las Especies Amenazadas de la IUCN (International Union for Conservation of Nature) como en el Decreto Supremo N° 004-2014-MINAGRI de la legislación nacional. Esto se debe a que enfrenta diversas amenazas como pérdida de hábitat, contaminación, sobreexplotación como alimento para el consumo humano, entre otras. Debido a esto es necesario tomar ciertas medidas para frenar su disminución en gran número. Como una alternativa para esta situación surge esta propuesta de protocolo para mantenimiento en cautiverio de esta especie, que permita tener la información necesaria por si en un futuro es necesario iniciar programas de reintroducción o reforzamiento de la población. En la elaboración del manual se tomaron en cuenta todos los elementos importantes necesarios para realizar la crianza de anfibios. Se realizaron visitas técnicas al Parque Zoológico Huachipa y al Laboratorio de Vida Silvestre (FAVEZ - UPCH) para entrevistar a la persona encargada de cada lugar y realizar diferentes mediciones como parámetros del agua, además se entrevistó en una oportunidad (vía internet) al encargado de la colección ubicada en el Museo de Historia Natural de Cochabamba (Bolivia); esto se acompañó con recopilación de información bibliográfica. Al ser esta especie acuática, las condiciones del agua resultan importantes, por lo que en los tres lugares se miden los parámetros del agua con frecuencia. Otro punto importante es la cuarentena, en la cual se realizan los exámenes y tratamientos profilácticos correspondientes. En cuanto a la alimentación, puede ser tanto con alimento vivo como con alimento pelletizado, pero se debe tener en cuenta que antes de empezar a mantener anfibios, uno de los puntos críticos es conseguir el alimento vivo o criarlo.

Palabras clave: *Telmatobius culeus* En Peligro crítico, cautiverio, manual

# INTRODUCCIÓN

La historia de la investigación taxonómica de *Telmatobius* comienza con la definición del género por Wiegmann (1834). Vellard entre los años 1946 y 1970 realizó trabajos en taxonomía en especies de *Telmatobius* de Perú y países vecinos, describiendo, durante este periodo, 26 especies.

Clase: Amphibia

Subclase: Apsidospondyli

Superorden: Salientia

Orden: Anura

Familia: Telmatobiidae

Género: *Telmatobius*

Según Vellard (1951), la distribución geográfica del género *Telmatobius* es muy amplia, se extiende desde el centro de Chile y Argentina (*T. montanus* de la provincia de Santiago, *T. hauthali* de Catamarca) hasta el sur del Ecuador (*T. niger*, *T. cienreus*). Es un grupo principalmente de regiones de gran altitud; pocas veces se encuentran ejemplares por debajo de 2 000m.s.n.m y con frecuencia sobrepasan los 4 000m.s.n.m.

*Telmatobius culeus* es una especie endémica del lago Titicaca (Fonturbel, 2004). Este lago se encuentra entre Perú y Bolivia, a 3803m.s.n.m y tiene un área de 8100 km<sup>2</sup>. Está compuesto por una cuenca principal, grande y profunda: Lago Grande (6315 km<sup>2</sup>), y dos cuencas más pequeñas y menos profundas: Lago Pequeño (1260 km<sup>2</sup>) y la Bahía de Puno (525 km<sup>2</sup>). La profundidad promedio es 107m y la profundidad máxima es 281m (Richerson, 1977).

La primera descripción realizada a la especie por Garman en 1876, menciona la piel holgada y el tamaño de los pulmones, los cuales eran un tercio del tamaño de los de un anuro de tamaño similar.

Según Piper (2007), debido a que el lago se encuentra a una gran altitud, los niveles de oxígeno del agua son bajos, por lo que los animales que habitan en este lago han desarrollado

adaptaciones notables. Una de las adaptaciones del *T. culeus* es su piel, la cual es suelta y holgada. Alrededor del abdomen, patas y cuello, esta piel flácida forma pliegues. Esta rana rara vez respira usando sus pulmones, pero obtiene la mayor parte del oxígeno que necesita vía difusión a través de la superficie húmeda de su piel. Su piel gruesa muestra una vascularización intensa con verdaderos plexos que envían a la epidermis numerosos capilares que terminan a su vez en un infundíbulo en forma de ampolla, separados del exterior por una o dos células epiteliales (Noble 1928; Vellard, 1951; Macedo 1960).

Vellard (1951), señala que, solamente de noche o al amanecer pueden ser vistos flotando en el agua; de día se encuentran desplazándose lentamente en el fondo barroso o permanecen ocultas en las plantas vigilantes para la captura de alguna presa.

Hutchison (1976) realizó un estudio que mostró que *T. culeus* posee un número de eritrocitos nucleados mayor que el reportado en cualquier otro anuro, y el volumen de los eritrocitos es el menor dentro de los anfibios. El hematocrito se encuentra dentro del rango de la mayoría de anfibios; sin embargo, el hematocrito junto con los eritrocitos de pequeño tamaño y en gran número, y afinidad de la sangre por el O<sub>2</sub>, mejoran el consumo de O<sub>2</sub>.

El macho realiza el amplexus, el cual es un abrazo nupcial que estimula el desove de los huevos por la hembra, este lo realiza en una posición pectoral o inguinal; a medida que la hembra va desovando, el macho descarga el esperma sobre los huevos para fecundarlos. El amplexus dura entre 2 y 3 días, en los que la hembra desova varias veces sobre sustratos que pueden ser plantas acuáticas o piedras (Ramos, 2000). Al parecer, la presencia de *Schoenoplectus californicus* (totora) es muy importante para la reproducción, ya que el desove se da casi exclusivamente en esta planta (Fontúrbel 2004). En época de reproducción, los adultos emergen hacia las zonas ribereñas (Pérez, 1998). Estudios de Pérez (1998, 2002) han aproximado un ciclo para *T. culeus*, los cuales muestran que existe un patrón de reproducción continua durante todo el año, aunque se ha observado una mayor ocurrencia del amplexus en los meses de invierno, un mayor desove en los

meses de abril, mayo y octubre, y la mayor cantidad de hembras con óvulos maduros se registró durante el verano (Pérez, 1998).

Una hembra de vida libre puede llegar a poner 500 huevos, en cambio en cautiverio este número se reduce de manera significativa. El tamaño de los huevos es de 2.2mm. Estos huevos tienen una vida corta pero lento desarrollo: la conversión a larva tarda siete días y la metamorfosis se completa luego de cuatro meses (Pérez, 1998).

La fase larvaria es la más crítica para la sobrevivencia de los renacuajos debido a que estos son muy susceptibles a padecer enfermedades y parasitosis (Iannacone, 2003) y sufren una elevada presión de depredación, inclusive por parte de individuos adultos de su propia especie (Fontúrbel et al. 2003). Los siete primeros días de vida se alimentan del saco vitelino que se reabsorbe en este periodo, luego se alimentan de fito y zooplacton. En cautiverio se alimentan de microalgas. A los 100 días se inicia el desarrollo de las patas posteriores, luego las anteriores. Posterior a la aparición y desarrollo de sus extremidades, la cola es reabsorbida lentamente (Ramos, 2000).

En cautiverio, al realizar la evaluación física, se debe prestar especial atención a la condición corporal y de la piel, a la palpación celómica y a la examinación oral. Anormalidades físicas incluyen pérdida de un miembro o dígito, úlceras o color/textura anormal de la piel.

La transiluminación (uso de una luz brillante enfocada para resaltar las estructuras internas celómicas) puede ser útil para detectar enfermedades celómicas como ascitis, neoplasia, procesos granulomatosos o masas.

Dentro de los exámenes complementarios que se realizan en cautiverio tenemos: Test para hongo chitridio (PCR), hemograma y bioquímica sanguínea, cultivo de bacterias, examen coproparasitológico citología, necropsia e histopatología (cuando fallece un ejemplar)

Dentro de los principales problemas de salud se encuentran:

## 1. Hongos

### 1.1 Chitridiomicosis



El agente causal, *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd), es un hongo quítrido con un amplio rango de hospederos documentados que infecta la piel de más de 300 especies diferentes de ranas y salamandras. La infección con Bd puede ser subclínica con mínimas lesiones de piel, o causar una enfermedad severa en la piel. Debido a que la piel es un órgano fisiológicamente importante para la osmorregulación en los anfibios, la disrupción de la función cutánea normal ha sido mencionada como la probable causa de muerte en animales con chitridiomycosis.

El método de diagnóstico de elección es el PCR (Polymerase Chain Reaction) ya que detecta pequeños números de organismos y es esencial para detectar infecciones subclínicas de Bd. Además tiene la ventaja de que requiere muestras mínimamente invasivas (ejem: hisopado de piel) para la prueba. Debido a que el PCR puede detectar cantidades muy pequeñas de ADN, es importante evitar la contaminación cruzada de las muestras de diferentes animales que pueden causar resultados falso-positivos (Pessier, 2012).

Entre los años 2012-2013, la ATFFS (Administración Técnica de Control Forestal y de Fauna Silvestre) decomisó 62 *Telmatobius*, a los cuales se les realizó la prueba de PCR en Tiempo Real, dando como resultado la presencia de *B. dendrobatidis* en 37 muestras de las 62 analizadas, lo que representa el 59.7%. El examen clínico reveló que todos los animales se encontraban en una pobre condición corporal. Sin embargo, ningún animal muestreado mostró signos clínicos específicos de quitridiomycosis (Zevallos, 2015).

El itraconazol es el tratamiento de elección. Se realizan baños diarios de cinco minutos con itraconazol al 0.01%. Este tratamiento se debe realizar en adultos, ya que animales más jóvenes no toleran esta dosis y puede causar mortalidad (Pessier, 2012).

## 1.2. Saprolegniasis

Saprolegniasis puede que tenga un mayor impacto en huevos de anfibios, lo que resulta en unos niveles de mortalidad altamente variables dependiendo en los factores ambientales y condición general (fertilidad) de los huevos (Blaustein et al. 1994). En los huevos afectados, las cápsulas parecen tener una capa delgada de pelusa blanca sobre la superficie.

*Saprolegnia sp.* se aísla en anfibios inmunocomprometidos, estresados o enfermos (Wright and Whitaker, 2001). Al principio las lesiones son pequeñas áreas circulares despigmentadas, a veces con márgenes hemorrágicos. En la piel se observa un material parecido al algodón. En casos avanzados, las lesiones pueden ser ulcerativas, penetrando a través de la piel y el tejido muscular. Se cree que la muerte está relacionada a la inhabilidad del individuo para regular el balance de sal en la sangre (Kiesecker and Blaustein, 1997; Ruthig, 2008).

Como tratamiento se realizan baños con itraconazol al 0.01% con solución salina al 0.6% durante 5 minutos cada 24 horas por 11 días.

## 2. Parásitos

### 2.1 Helmintos

Se cuenta con información de los helmintos parásitos de cuatro especies del género *Telmatobius* en el Perú: *T. jelskii*, *T. marmoratus*, *T. peruvianus* y *T. culeus*. Los tres helmintos con mayor importancia específica en *Telmatobius* fueron los nemátodos *Hedruri moniezi* y *Aplectana hylambatis*, y el tremátodo *Gorgoderina parvicava* (Chero et al. 2014).

Los tremátodos son los parásitos de anfibios más reconocidos. Los anfibios pueden servir como hospederos secundarios intermediarios o definitivos de trematodos. En general, la enfermedad está asociada solo con un gran número de tremátodos enquistados, adheridos o que migran a través de los tejidos del hospedero. Las lesiones generalmente resultan por trauma, compresión, o desplazamiento normal del tejido por la metacercaria enquistada, el cual es parte del ciclo de vida de los tremátodos.

El tratamiento es difícil pero puede ser dirigido contra el estadio adulto del parásito con la administración repetida de praziquantel. Una manera altamente efectiva para prevenir la infección por metacercarias es remover todos los gusanos acuáticos (huéspedes intermedios primarios) de los acuarios.

Los nemátodos también son helmintos comunes que infectan a los anfibios desde el huevo hasta el estadio adulto y afectan a una variedad de órganos y tejidos. El tratamiento incluye la

administración de varios regímenes antihelmínticos, ya sea vía oral o mediante baños con fenbendazol, levamisol, tiabendazol o ivermectina (Hadfield and Whitaker, 2005; Iglauer et al. 1997; Pessier, 2002; Wright, 2006).

Los métodos de diagnóstico incluyen examinación fecal, lavados traqueales, raspados de piel, muestras de sangre, seguidos por la identificación del parásito.

## 2.2 Protozoarios

Muchos protozoos intestinales son comensales y no producen enfermedades.

Las amebas ocupan el interior del animal, la mayoría en el tracto gastrointestinal, hígado o riñón. Se sabe que la amebiasis ocurre en anfibios estresados y se asocia generalmente al género *Entamoeba* (Wright, 2006). Las presentaciones gastrointestinales son más comunes, y los signos de amebiasis incluyen anorexia, pérdida de peso, diarrea, sangre en las heces y deshidratación. También puede ocurrir diseminación al hígado o riñón. Se puede hacer diagnósticos presuntivos a través de la identificación de la ameba en muestras fecales o muestras de lavados cloacales de animales enfermos. El diagnóstico definitivo requiere generalmente confirmación histológica de la ameba invasiva dentro del tejido (Poynton and Whitaker, 2001). El tratamiento incluye terapia de soporte para contrarrestar la deshidratación y el compromiso gastrointestinal, así como administración oral o baños con drogas antiamebas como metronidazol (Wright, 2006).

## 3. Virus

### 3.1 Ranavirus

Ranavirus pertenece a la familia Iridoviridae. La especie Ranavirus 3 (FV-3, del inglés Frog Virus 3) es capaz de infectar tanto a los anfibios como a las tortugas acuáticas (Vadillo, 2002). Muchos miembros de esta familia pueden infectar a los animales poniendo en riesgo su vida; sin embargo, también pueden provocar infecciones subclínicas. El virus FV-3 está asociado con enfermedad sistémica que se manifiesta con dos principales síndromes; la manifestación más severa incluye hemorragia y edema en órganos internos y, en la forma menos aguda, los animales afectados presentan eritema, ulceración o hiperplasia de la piel. Generalmente, los renacuajos en

última etapa y metamorfosis son los más susceptibles a la infección, mientras que los adultos se ven afectados de manera menos frecuente, una diferencia aparentemente relacionada a la virulencia del virus y los factores de resistencia, innatos o adquiridos, del hospedero. De manera típica, los renacuajos enfermos dejan de comer, permanecen al fondo del tanque, nadan de forma anormal y presentan deformaciones. Es común la distensión abdominal debido a la retención de fluidos y edema generalizado, lo que probablemente refleja la predilección del virus por los riñones. Las lesiones en piel o petequias pueden no siempre estar presentes. Pueden ocurrir mortalidades en masa de renacuajos, con una pérdida de hasta 100% de la población del tanque (Fowler, 2012). La transmisión puede ser indirecta, por agentes patógenos que se encuentran en el ambiente, o directa, por ingesta de individuos muertos infectados con Ranavirus. Las técnicas de diagnóstico incluyen histología, citología, aislamiento del virus, microscopía electrónica y técnicas moleculares (PCR, electroforesis) (Gray, 2009).

*T. culeus* está categorizada como En Peligro Crítico (CR) tanto en la Lista Roja de las Especies Amenazadas de la International Union for Conservation of Nature (IUCN) como en el Decreto Supremo N° 004-2014-MINAGRI, en el que se prohíbe la caza, captura, tenencia, comercio, transporte o exportación con fines comerciales en el Perú.

Según Aguilar (2010), de todas las amenazas para los anfibios andinos, la pérdida de hábitat es compartida por 83 especies (que representa el 36% de 235 especies en total) de anfibios andinos.

33 especies (14%) de anfibios andinos peruanos, se enfrentan a la degradación del hábitat, relacionada principalmente con la contaminación producida por actividades agrícolas y mineras según la IUCN (2010). Al ser una especie totalmente acuática y utilizar la piel como principal órgano respiratorio, la sensibilidad a la contaminación del lago es mayor. Angulo (2008) menciona que todos los poblados circunlacustres vuelcan sus residuos al lago, manifestándose sobre sus costas, marcándolas con anillos concéntricos de basura y restos de vegetación flotante. La contaminación con residuos de combustible hoy afecta a la vegetación subacuática y la química, a los moluscos y crustáceos que sirven de alimento a las ranas.

Otra actividad que afecta especialmente a las ranas andinas acuáticas, es la sobreexplotación como alimento para el consumo humano, siendo 8 de las 25 especies de *Telmatobius* que tienen reportada esta amenaza (Aguilar, 2010). A este género se le atribuyen varias propiedades medicinales. Angulo (2008), entrevistó a una vendedora en la ciudad del Cusco (Perú), la cual indicó que semanalmente solicita al proveedor 1200 a 2400 ejemplares.

Otra amenaza reportada, observada principalmente en las ranas arlequín y andinas acuáticas, es la quitridiomycosis (Aguilar, 2010). Esta es una enfermedad infecciosa causada por el hongo patógeno *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd). Catenazzi (2010), realizó un estudio con *T. marmoratus* adquiridos en un mercado en Cusco (Perú) para evaluar la presencia de este hongo. Todos los individuos estaban infectados con Bd. El comercio directo, común en los Andes, puede ser un factor importante involucrado en las epidemias de quitridiomycosis, así como a través del agua que contiene las zoosporas. Berenguel (2014) también reportó la presencia de este hongo en *T. culeus* dentro de la Reserva Nacional del Titicaca.

En el 2010 se llevó a cabo un taller con el fin de obtener información biológica, del hábitat y de aspectos socioeconómicos de los pobladores de las riveras del Lago Titicaca, para establecer las bases para la conservación de la especie *T. culeus*, donde participaron instituciones y organizaciones de Perú, Bolivia, Estados Unidos y Costa Rica; y el zoológico de Denver es una de las instituciones que se han comprometido para evitar la extinción de esta rana, trabajando para preservarla, en conjunto con Perú y Bolivia, a través de un programa de conservación.

Desde el 2010, el Parque Zoológico Huachipa cuenta con una exhibición con la finalidad de promover la conservación de la especie. Es la primera institución que logró con éxito la reproducción y conservación de este anfibio en el año 2011. En el Museo de Historia Natural ‘Alcides D’Orbigny’ de Bolivia se lleva a cabo un proyecto de conservación de *Telmatobius* sp., teniendo varios especímenes en cautiverio. En el año 2013 se logró la reproducción exitosa de *T. culeus* obteniendo algunos renacuajos. Este trabajo pretende recopilar toda la información obtenida

durante estos años de trabajo para proponer un protocolo para su mantenimiento en cautiverio que sirva como guía para futuros proyectos de conservación de la especie.

# Materiales y Métodos

## 1. Estudio

La especie en estudio es la Rana del lago Titicaca (*Telmatobius culeus*).

Este estudio es de tipo descriptivo. Los lugares utilizados para la elaboración de esta tesis fueron el Parque Zoológico Huachipa y el Laboratorio de Vida Silvestre–Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH), ambos ubicados en la ciudad de Lima, Perú.

## 2. Recolección de datos

Durante los meses de enero y febrero del 2015 se visitó el Parque Zoológico Huachipa para recopilar información sobre manejo que se realiza a las ranas que se mantienen en cautiverio en dicho lugar. Al Laboratorio de Vida Silvestre (FAVEZ - UPCH) se realizaron visitas durante dos semanas. Además se recopiló información del Museo de Historia Natural ‘Alcides D'Orbigny’ donde se lleva a cabo un proyecto de conservación de *Telmatobius* sp.

Se elaboró un cuestionario (Anexo 1) para poder realizar entrevistas a los encargados del cuidado de las ranas en los 3 lugares. En el caso de Bolivia, esta se realizó vía internet.

Adicionalmente se obtuvieron datos de diversas referencias bibliográficas en la crianza en cautiverio de *Telmatobius culeus*.

## 3. Evaluación del agua

Para obtener datos sobre las condiciones del agua, se utilizaron reactivos de la marca API™, para medir NO<sub>2</sub> (Nitrito), NO<sub>3</sub> (Nitrato) y NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub> (Amoniac), siguiendo las indicaciones del fabricante. Solo en el Parque Zoológico Huachipa se midió dH (Dureza) mediante un reactivo. Para medir el pH se utilizó un medidor de pH de la marca Hanna®. Para medir temperatura, tanto del agua como del ambiente, se utilizó un termómetro digital. En el Parque Zoológico Huachipa, estas mediciones se realizaron de forma interdiaria.

Para obtener el peso de los individuos se utilizó una balanza digital de la marca Soehnle®. El tamaño de los individuos se obtuvo midiéndolos con un vernier digital.

#### 4. Procesamiento de datos

Luego de obtenida esta información, se elaboró una propuesta de protocolo para mantenimiento en cautiverio de esta especie.



# Resultados

## Propuesta de protocolo de mantenimiento en cautiverio

### 1. Métodos de Identificación

#### 1.1 Identificación Individual

La especie presenta una coloración que no es 100% uniforme entre los ejemplares, varía de un marrón olivo uniforme a marrón con manchas blancas. Algunos tienen muchas manchas blancas por lo que aparentan ser de color gris (Garman, 1876). A veces presentan manchas y parches negros. Pueden presentar manchas negras sobre toda la superficie dorsal. La superficie ventral puede variar de gris claro a naranja brillante (Vellard, 1992). El color del cuerpo también se describe como verde oscuro (Fontúrbel, 2004).

En recintos con un número no elevado de individuos, la fotoidentificación resulta un método apropiado para llevar un control adecuado de los mismos. Se da un código al individuo para identificarlo. Resulta útil este método para evidenciar el dimorfismo sexual una vez que completan el desarrollo. Se puede complementar este método, para obtener mayores datos, con el peso de los individuos. Existen programas como MANTIS 2.0.1®, el cual es utilizado en Bolivia, que resulta una herramienta muy útil, ya que permite almacenar diferentes datos biológicos de la especie como información taxonómica, fotos y sonidos.

#### 1.2 Determinación del sexo

Los machos presentan menor talla que las hembras, y en parejas en apareamiento, su tamaño puede representar 1/3 del de las hembras. El sexo se determina observando las patas delanteras: los machos tienen una callosidad y las hembras no, que se encuentra en la región del prepollex (Pérez, 2000). Esto permite también determinar el estado reproductivo de un individuo. Si no está claro el sexo, se indica como “indeterminado”.

Es posible identificar hembras grávidas por inspección usando una luz brillante bajo la cual los huevos pueden ser vistos a través de la pigmentación de la pared abdominal ventral (Newman 1977a; Bell 1978a, 2002). Como el abdomen de la hembra grávida será notablemente más grande, la manipulación debe ser mínima.

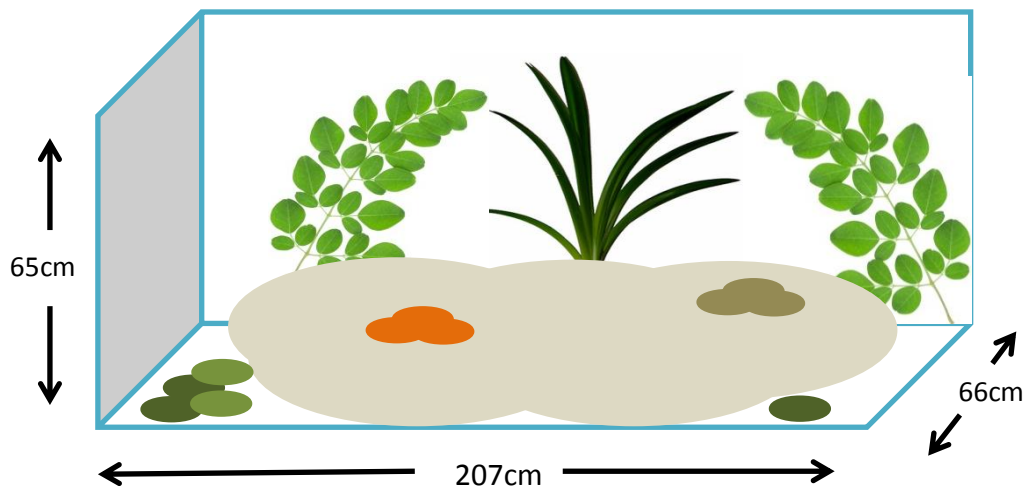
## 2. Instalaciones

En el Parque Zoológico Huachipa tienen en ambientes separados a los juveniles y a los adultos, ya que puede haber competencia por el alimento.

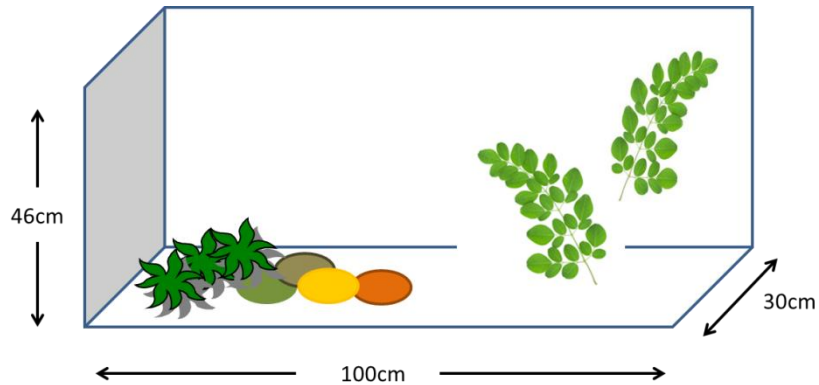
### 2.1 Construcción de las instalaciones

Al ser animales completamente acuáticos, los materiales con los que se construya el ambiente deben ser no porosos y fáciles de limpiar (Poole, 2012).

A continuación se muestra una alternativa empleada en el Parque Zoológico Huachipa, la cual tiene tres paredes de concreto y una de vidrio.



A continuación se muestra una alternativa empleada en el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH), la cual tiene capacidad para 96 litros de agua. Los acuarios son de vidrio adheridos con selladores de silicona. Las instalaciones en Bolivia eran de los mismos materiales.



## 2.2 Densidad

En la exhibición que se encuentra en el Parque Zoológico Huachipa, en el ambiente colocan 10 adultos o 20 juveniles como máximo; mientras que en el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH), entre uno a seis individuos adultos (16lt por individuo).

## 2.3 Sustrato y Refugio

En el Parque Zoológico Huachipa se emplearon plantas artificiales, ya que son fáciles de desinfectar (siempre y cuando después sean enjuagadas bien). Las plantas artificiales fueron lavadas una vez a la semana usando cloro al 0.5%.

En el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH), un tiempo se utilizó grava en las peceras; sin embargo, se dejaron de emplear debido a que no facilitaban la limpieza de los ambientes.

En el Parque Zoológico Huachipa y en el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH) se emplearon piedras de río.

En Bolivia, emplearon ladrillos y piezas de cerámica, en ambos las ranas se pueden ocultar. No se ha observado que la aspereza del ladrillo cause problemas de lesiones en los individuos. Es necesario conocer la procedencia de ambos materiales para evitar problemas.

## 2.4 Agua

En el caso de la exhibición que se encuentra en el Parque Zoológico Huachipa, el agua proviene de un pozo profundo, así que no tiene cloro, por lo que no requiere tratamiento

previo. En este lugar el cambio de agua se realiza al 100%, por lo que las ranas son trasladadas a una pecera pequeña con un poco del agua original.

En lugares donde se emplea agua de caño, como en el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH), se dechloró previamente antes de ser utilizada con AmmoBuster™ Extreme, el cual se usa 5mL del producto por 38L de agua. En este lugar, una vez a la semana se realiza el cambio de 2/3 de agua y una vez al mes se cambia el 100% del agua acompañándose de una limpieza profunda del acuario. El agua que se descarta va directamente al desagüe.

En el caso de la exhibición que se encuentra en Bolivia, se realiza un cambio de 50% del agua de las peceras 2 veces por semana.

Respecto a la limpieza del agua, un filtro biológico es necesario en una pecera. Este debe ser lavado cada mes o dos meses solo con agua y la ayuda de una esponja, ya que a este se le adhieren bacterias nitrificantes. Para esto es necesario desarmarlo y no tardar más de 30 minutos ya que en el ambiente empezaran a proliferar las bacterias. En el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH) se reemplaza cada cuatro o seis meses, o cuando es necesario.

#### 2.4.1 pH

En el lado boliviano del Lago Titicaca, se evidenció que la mayoría de las ranas (93% de la ranas contabilizadas en el estudio utilizando el método de transectos lineales y cuadrantes en el lago) prefieren el agua con un pH entre 8 y 8.5 (Genova, 2011).

En el Parque Zoológico Huachipa, este parámetro se encuentra en promedio de 7.82. En el caso del Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH), este parámetro se encuentra en promedio de 7.36.

#### 2.4.2 Dureza (dH)

El estudio, mencionado en el punto anterior, mostró mayor variación en este caso; sin embargo, la mayoría de las ranas prefieren agua con valores entre 12dH y 13dH (Genova, 2011).

En el Parque Zoológico Huachipa, este parámetro se encuentra en promedio de 16.4dH.

#### 2.4.3 Nitrito NO<sub>2</sub>

En el Parque Zoológico Huachipa el nivel promedio es 0ppm.

En el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH) el nivel promedio es 1ppm. La presencia de nitritos requiere acciones correctivas y monitoreo adicional del ambiente (Odum, 2011).

#### 2.4.4 Nitrato NO<sub>3</sub>

En el estudio, el nivel de nitrato fue menor a 0.3mg/L, lo que es considerado un nivel bajo (Genova, 2011).

Tanto en el Parque Zoológico Huachipa como en el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH) el nivel promedio es 40mg/L, el cual es un nivel alto, por lo que se debe hacer un seguimiento. La acumulación de nitratos es un indicador de cambio de agua insuficiente, el cual debe ser abordado incrementando la frecuencia en que se cambia el agua (Odum, 2011).

#### 2.4.5 Amoniac NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub>

En el estudio, no se detectaron niveles de amoniac en el Lago Titicaca (Genova, 2011).

En el Parque Zoológico Huachipa el nivel se mantiene muy bajo, 0.25ppm en promedio.

En el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH) el nivel en promedio es de 0ppm.

### 2.5 Luz

En la exhibición que se encuentra en el Parque Zoológico Huachipa, un lado del acuario recibe luz solar, no cuenta con una fuente artificial de luz.

En el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH) cuentan con luz de un fluorescente.

En el caso de la exhibición que se encuentra en Bolivia, cada pecera cuenta con una lámpara UV y se hace un control diario de la intensidad de la luz. Mensualmente se realiza una medición de los niveles de UV con un fotómetro. El nivel de UV de la lámpara a emplear debe ser de acuerdo a los niveles de exposición a UV en la naturaleza. En caso de esta especie, debe ser de un nivel bajo.

## 2.6 Temperatura

En un estudio realizado en el lado boliviano del Lago Titicaca, la temperatura promedio del agua es 15.4°C (Schmitz, 2012).

En la exhibición que se encuentra en el Parque Zoológico Huachipa, esta cuenta con un enfriador de agua “chiller”, para controlar la temperatura del agua y mantenerla fría. La habitación no cuenta con ningún sistema de enfriamiento.

En el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH), el ambiente cuenta con aire acondicionado, el cual es controlado diariamente para evitar variaciones de la temperatura. El agua y el ambiente mantienen similar temperatura, en promedio 17°C, con una diferencia de  $\pm 1^\circ$ .

En el caso de la exhibición que se encuentra en Bolivia, cuentan con un sistema de enfriamiento para controlar la temperatura del ambiente y del agua. Aquí se realiza un control diario de la temperatura.

## 2.7 Limpieza

Las ranas desprenden partículas de piel, eliminan heces y amoníaco en el entorno. Esto, junto con las partículas de comida en descomposición flotantes, ensuciarán el agua y pueden tener efectos no deseados en la salud de las ranas, donde el movimiento del animal y espacio es limitado.

En el Parque Zoológico Huachipa, donde el ambiente tiene concreto como parte de la estructura, se empleó cloro al 10% para limpiar las paredes. Para esto fue necesario trasladar a los animales.

En el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH), la limpieza se realizó con agua y detergente, para esto fue necesario trasladar a los animales a otro ambiente y asegurarse que no quedó ningún residuo del producto al momento de regresarlos.

El material empleado en la limpieza fue lavado una vez terminado el procedimiento.

### 3. Dieta

La alimentación de las ranas debe ser diaria, ya sea en la mañana o en la tarde, usando alimento vivo, la cantidad generalmente es *ad libitum*, o alimento comercial, la cantidad siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Se pueden añadir suplementos vitamínicos y ser administrados una vez a la semana.

Es importante contar con un diario donde se incluyan los datos de la alimentación para poder reportar cualquier problema que se presente y realizar una modificación.

#### 3.1 Adultos

En el Parque Zoológico Huachipa se empleó *Tubifex* para alimentar a las ranas que se encuentran en la exhibición, esto se adquiere en tiendas comerciales. Los *Tubifex* pueden ser administrados vivos ya que son ricos en proteínas y grasas. Estos se pueden criar, pero es necesario saber la procedencia de los mismos para evitar que se encuentren contaminados, ya que esto podría ocasionar problemas en las ranas.

El Laboratorio de Vida Silvestre usa una variedad de alimentos vivos, como *Tubifex*, peces pequeños (guppys y mollys) o pequeños caracoles de agua dulce, y comerciales, como Massivore Delite™, enriquecido con DL-metionina y L-lisina (Hikari®); Sinking Wafers™, enriquecido con vitamina C (Hikari®); Tetra Min®, enriquecido con vitaminas y omega 3 (Tetra®); Marine A®, enriquecido con vitamina C (Hikari®).

Por animal se suele dar 1-2 pellets de Tubicubi®, que consiste en lombrices *Tubifex tubifex* deshidratadas por congelación. El tamaño de cada pellet es de 1cm x 1 cm.

Otro alimento comercial empleado es Carnivore®, el cual potencia el crecimiento y desarrollo debido a que es rico en proteínas (Tropical®). Cada pellet tiene 1cm de diámetro. En la exhibición que se encuentra en Bolivia, se los alimenta con alimento vivo y pellets. En Bolivia, se suplementa con calcio a todos los individuos en el alimento cada dos a tres semanas aproximadamente. Otra opción son las lombrices de tierra, las cuales son bien aceptadas por los adultos.

### 3.2 Juveniles

El alimento y la cantidad administrada es la misma que la de los adultos.

En el caso de las lombrices de tierra, se ha visto que no son bien aceptados. Se los debe ayudar a atraparlos moviendo los gusanos delante de ellos. Los residuos son eliminados a diario.

En el Laboratorio de Vida Silvestre se utilizó pulgas de agua con algunos ejemplares juveniles siendo bien aceptados por estos.

### 3.3 Renacuajos

En el Parque Zoológico Huachipa se alimentan de microalgas, por lo que cuando el estanque tiene una parte de concreto, se dejan las paredes verdosas para que sirvan de fuente de alimento.

En el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH), otras de las opciones empleadas son las escamas de pescado y pedazos de pescado deshuesados como la tilapia.

Dentro de los alimentos comerciales tenemos la Spirulina®, que es un alimento vegetal granulado con alga *Spirulina platensis*. Este alimento contribuye al crecimiento y desarrollo ya que es una fuente de proteínas, vitaminas y oligoelementos fácilmente asimilables. Cada pellet tiene 2.5 mm de diámetro.

En la exhibición de Bolivia, son alimentados con pellets (solo de vez en cuando), escamas de pescado, espinaca o calabaza seca. También se les administra *Tubifex* cuando hay disponible.



## 4. Procedimientos de Cuarentena

### 4.1 Cuarentena

Es necesario mantener en cuarentena a las ranas que han sido tomadas de la naturaleza y llevadas a centros de cautiverio para monitorear cualquier signo de enfermedad que puedan presentar. Durante este periodo tiene que haber un monitoreo constante.

Todas las ranas que fueron transferidas juntas deben estar en cuarentena al mismo tiempo. Si se introducen nuevas ranas durante el periodo de cuarentena, este periodo debe comenzar de nuevo desde este punto.

### 4.2 De la naturaleza a un centro de cautiverio

El tiempo de duración de la cuarentena es de uno a tres meses. En este periodo se realizan todos los exámenes. El sistema empleado es todo dentro – todo fuera.

La primera semana de la cuarentena no se las manipula debido al enorme estrés producto del viaje. Debido a este factor, es muy probable que no sobrevivan todos los animales.

### 4.3 Exámenes

El en Parque Zoológico Huachipa no se realizó este procedimiento debido a que las ranas provenían del Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH) donde si pasaron por este etapa.

En el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH) se realiza un examen físico, exámenes coproparasitológicos tres veces consecutivas y en lo posible, examen para chitridiomycosis. Para este examen se toman muestras individuales antes y después de cualquier tratamiento, en caso no es posible el diagnostico, se les realiza un tratamiento con itraconazol al 0.01% (agente triazol antifúngico) como preventivo. El tratamiento son baños diarios de 5 minutos durante 11 días.

En Bolivia, los tres meses de cuarentena a todos los animales recién llegados se dividen en: un mes y medio en tratamiento y un mes y medio en observación. Se realiza un tratamiento para Bd con itraconazol. A las ranas se les realiza baños con itraconazol por 5 minutos. Consiste en 2 tratamientos con un intervalo de 10 días entre los 2 tratamientos. El examen

para chitridios se realiza en cada individuo antes y después del tratamiento. Si resultan positivos, se quedan en cuarentena, las que resultan negativas se van.

#### 4.4 Higiene

Se emplean guantes de nitrilo descartables para realizar la limpieza de cada contenedor y cuando se manipula a una rana.

Para evitar la posibilidad de contaminación cruzada, los contenedores deben ser manejados siempre en el mismo orden cada día.

En el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH), una vez finalizado el periodo de cuarentena, los contenedores son desinfectados con Virkon®, el cual es un desinfectante de amplio espectro contra virus, bacterias, hongos, esporas, micoplasma y algas.

En Bolivia, las personas encargadas de la limpieza utilizan un overol y botas. El agua se cambia diariamente por el tratamiento que reciben.

#### 4.5 Alojamiento

En el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH), la cuarentena se realiza en un contenedor plástico con las siguientes medidas: 50cm de largo x 30cm de alto y 40cm de ancho.

También cuentan con un contenedor de vidrio con las siguientes medidas: 100cm de largo x 48cm de alto y 29.5cm de ancho.

Todo el lote se mantiene junto, solo si amerita, se separan.

##### 4.5.1 Dieta

En el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH), se alimentaron con lombrices vivas (*Tubifex*) o con peces vivos guppy (*Poecilia reticulata*) o molly (*Poecilia sphenops*), estos son más difíciles de consumir para las recién llegadas. También se ofrece pellets de comida comercial. En este tiempo se evalúa como es el consumo de los diferentes insumos.

En caso de observarse un animal enfermo, se ofrece los peces muertos o licuados.

La cantidad de alimento es ad libitum, y se coloca una vez al día, ya sea por la mañana o en la tarde. Una vez a la semana se suplementa con Massivore Delite®.

En Bolivia se ofrece el alimento en la mañana, y si no ha sido consumido al final de la mañana, se retira.

#### 4.5.2 Luz

En el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH) cuentan con la luz de un fluorescente.

En Bolivia cuentan con una lámpara UV.

### 4.6 Transporte

#### 4.6.1 Medio de transporte

Los animales son trasladados en una caja destapada que mantiene el frío (cooler). Para mantener una temperatura fría (8-10°C) durante el viaje, se emplea hielo hecho con agua de clorada. El hielo debe ser reemplazado las veces que sea necesario para mantener una temperatura baja constante.

#### 4.6.2 Llegada

Una vez que llegan las ranas al nuevo lugar de cautiverio, se coloca una por una en una bolsa con agua y hielo dentro del nuevo ambiente durante 5 minutos para que se tempere el agua, pasado este tiempo son liberadas.

## 5. Reproducción

En el Parque Zoológico Huachipa se ha observado que en el mes de Julio hay mayor actividad sexual. Cuando se evidencia el amplexus, la pareja es retirada a una pecera y se los deja por una semana. La ovoposición ocurrió en las plantas artificiales.

En el caso de Bolivia, la ovoposición ocurrió en *Elodea* sp.

## 6. Evaluación, Prevención, Diagnóstico y tratamiento de enfermedades

En el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH) hubo casos de Saprolegniasis en ejemplares recién llegados de decomiso, donde las lesiones se observaron en las ranas muertas.

En las ranas del Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH) se detectaron nemátodos del género *Camallanus*, mediante exámenes coproparasitológicos. El tratamiento se llevó a cabo con Piperacina.

## **7. Mortalidad**

En el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH) y el Parque Zoológico Huachipa, cuando ocurrió una muerte, se reportó a la ATFFS (Administración Técnica Forestal y de Fauna Silvestre). Se realizó una necropsia, y según los hallazgos, se realizaron los exámenes. Luego de haber realizado el procedimiento, los ejemplares fueron conservados en formol al 10%.

En Bolivia, todos los animales muertos fueron diseccionados y se aisló cada órgano para observarlo y así determinar la causa de muerte. Los parásitos que se encuentran dentro de la rana fueron recolectados y almacenados en tubos eppendorf con alcohol.

En general, de acuerdo al análisis de estos 3 lugares y la bibliografía relacionada, se propone el siguiente protocolo:

### **Protocolo de Crianza de *Telmatobius culeus***

#### 1. Métodos de identificación

- Fotoidentificación → Asignar un código a cada individuo.  
Si es posible, emplear un programa como MANTIS 2.0.1 para añadir la mayor cantidad de datos posible y llevar un mejor control.
- Determinación del sexo → En las patas delanteras, los machos tienen una callosidad y las hembras no, que se encuentra en la región del prepollex. Si no está claro el sexo, se indica como “indeterminado”.

- Identificación de hembras grávidas → Por inspección usando una luz brillante bajo la cual los huevos pueden ser vistos a través de la pigmentación de la pared abdominal ventral (Newman 1977a; Bell 1978a, 2002). la manipulación debe ser mínima.

## 2. Instalaciones

- Opciones de Materiales:
  - Vidrio y sellador de silicona para peceras
  - Concreto
- Sustrato y Refugio
  - Plantas artificiales → Fácil desinfección. De preferencia realizar la desinfección cada dos semanas. Es necesario que estén bien enjuagadas antes de introducirlas a la pecera para eliminar cualquier residuo del desinfectante.
  - Piedras de río → De preferencia debido a que su tamaño no es muy pequeño, lo que facilita la limpieza, y son fáciles de conseguir.
  - Ladrillos y piezas de cerámica → No causa lesiones en la piel de las ranas. Es necesario saber la procedencia de los objetos.
  - Filtro Biológico → Necesario en el ambiente de los animales. Realizar una desinfección frecuente: Cada mes o dos meses. Se debe desarmar y limpiar bien con ayuda de una esponja, tratando de no demorar más de 30 minutos en el proceso
- Agua → De acuerdo a la procedencia:
  - De caño → Es importante declorarla con productos para acuarios antes de utilizarla. Una opción es el AmmoBuster™ Extreme, el cual se usa 5mL del producto por 38L de agua.
  - De Pozo Profundo → Al no contener cloro, no es necesario un tratamiento previo.
- Frecuencia de cambio del agua → Alternativas:
  - 2/3 de agua una vez a la semana y 100% del agua + limpieza profunda de la pecera mensual.

- 100% del agua + limpieza profunda de la pecera cada 15 días
- 50% del agua 2 veces por semana
- Para hacer la limpieza de la pecera es necesario trasladar a los individuos a otro ambiente con un poco del agua original.
- Parámetros del agua → Es necesario llevar un registro con las medidas de los diferentes parámetros del agua. Existen kits especiales para pecera los cuales brindan valores bastante precisos.
  - pH → Un pH del agua mayor a 7 es considerado un valor óptimo para el desarrollo de los anfibios (Pierce B et.al. 1984). En los lugares analizados los promedios eran 7.36 y 7.82.
  - Dureza (dH) → Agua dura, entre 12dH y 13dH; sin embargo, valores de hasta 16.5dH parece no afectarles.
  - Nitrito  $\text{NO}_2$  → Lo ideal es que el valor sea 0ppm. Valores por encima de esto, indican que se debe realizar acciones correctivas y monitoreo constante.
  - Nitrato  $\text{NO}_3$  → Lo ideal es que el valor sea menor a 1ppm. Valores por encima de esto, indican que se debe incrementar la frecuencia con la que se cambia el agua.
  - Amoníaco  $\text{NH}_3/\text{NH}_4$  → Lo ideal es que el valor sea 0ppm.
- Luz
  - Fuente de luz natural → Luz solar.
  - En caso de no contar con una fuente de luz natural, se puede emplear fuentes de luz artificial como fluorescentes de 36W.
  - Lámparas UV → El nivel de UV de la lámpara a emplear debe ser de acuerdo a los niveles de exposición a UV en la naturaleza. En caso de esta especie, al ser acuática, debe ser una radiación UVB de nivel bajo (Repti Glo 2.0 Exo Terra®).
- Temperatura → Es importante mantener la temperatura del ambiente y del agua controladas, recomendable que sea diario. En promedio 17°C.

- Ambiente→ Se puede instalar un sistema de aire acondicionado o enfriamiento.
- Agua→ Se puede instalar un enfriador de agua “chiller”.
- Limpieza→ Antes de comenzar a la limpieza del ambiente, es necesario trasladar a los individuos a otro ambiente con un poco del agua original.
  - Materiales: Agua y detergente son suficiente cuando la instalación es de vidrio. Es necesario que no quede ningún residuo del producto antes de ingresar a los animales.

En caso de ser paredes de concreto, se puede emplear cloro al 10%. De igual modo, no debe quedar ningún residuo del producto.

### 3. Dieta

- Adultos→ Alimentar diariamente. Se puede administrar alimento comercial y vivo.
  - Alimento comercial→ Tubicubi® (1-2 pellets), Carnivore®, Massivore Delite™, L-lisina (Hikari®), Sinking Wafers™, Tetra Min®, Marine A®, enriquecido con vitamina C (Hikari®).
  - Alimento vivo→ *Tubifex tubifex*, se pueden criar pero es necesario saber su procedencia. Otra opción son las lombrices de tierra, peces pequeños (guppys y mollies) o pequeños caracoles de agua dulce.
  - Suplementos: Se puede administrar calcio en el alimento cada dos a tres semanas aproximadamente
- Juveniles→ Alimentar diariamente. Se puede administrar alimento comercial y vivo, los mismos empleados en los adultos.
  - En el caso de emplear lombrices de tierra como alimento vivo, se debe poner el alimento delante de ellos para ayudarlos.
  - Otra opción bastante aceptada son las pulgas de agua.
- Renacuajos
  - Alimento comercial→ Spirulina®

- Alimento vivo/no comercial → Microalgas, *Tubifex*, escamas de pescados y pedazos de pescado deshuesados como la tilapia, espinaca o calabaza seca.

#### 4. Cuarentena

- Tiempo de duración → 1 a 3 meses. Los 3 meses se pueden dividir en: un mes y medio en tratamiento y un mes y medio en observación.
- Todas las ranas que fueron transferidas, deben estar en cuarentena al mismo tiempo.
- Sistema empleado → Todo dentro – Todo fuera.
- Primera semana de la cuarentena no se las manipula debido al enorme estrés producto del viaje.
- Exámenes:
  - Examen físico
  - Exámenes coproparasitológicos tres veces consecutivas
  - Examen para chitridiomycosis (de ser posible). Muestras individuales antes y después de cualquier tratamiento.
- Tratamiento profiláctico → Baños diarios de 5 minutos durante 11 días con itraconazol al 0.01% (agente triazol antifúngico).
- Higiene
  - Materiales: Guantes de nitrilo, para limpieza y manipulación de los individuos, overol y botas.
  - Los contenedores deben ser manejados siempre en el mismo orden cada día para evitar contaminación cruzada.
  - Agua se cambia diariamente.
  - Desinfección de contenedores finalizada la cuarentena con Virkon®.



- Alojamiento→ Opciones: Contenedor plástico con las siguientes medidas: 50cm de largo x 30cm de alto y 40cm de ancho. Contenedor de vidrio de: 100cm de largo x 48cm de alto y 29.5cm de ancho.
  - Dieta→ Cantidad ad libitum, una vez al día, ya sea por la mañana o en la tarde. Lombrices vivas (*Tubifex*), peces vivos guppy (*Poecilia reticulata*) o molly (*Poecilia sphenops*). También se ofrece pellets de comida comercial.
 

En caso de observarse un animal enfermo, se ofrece los peces muertos o licuados.

Si el alimento no ha sido consumido, se retira.
- Transporte→ En caja que mantiene el frío (cooler), destapada y hielo, hecho con agua declorada. Este debe ser reemplazado las veces que sea necesario para mantener una temperatura baja constante (8-10°C).
 

Una vez que llegan las ranas al nuevo lugar de cautiverio, se coloca una por una en una bolsa con agua y hielo dentro del nuevo ambiente durante 5 minutos para que se tempere el agua, pasado este tiempo son liberadas.

## 5. Reproducción

- El macho realiza el amplexus, el cual es un abrazo nupcial que estimula el desove de los huevos por la hembra, a medida que la hembra va desovando, el macho descarga el esperma sobre los huevos para fecundarlos. El amplexus dura entre 2 y 3 días, en los que la hembra desova varias veces sobre sustratos que pueden ser plantas acuáticas o piedras.
- Se ha observado que en el mes de Julio hay mayor actividad sexual.
- Desove ocurre en las plantas, ya sean naturales o artificiales.

## 6. Problemas médicos

- Evaluación
  - Comportamiento→ Se desplazan lentamente en el fondo, pueden quedarse flotando en el agua o permanecer ocultas en las plantas.

- Examen físico → Evaluar condición corporal y de la piel, palpación celómica y examinación oral.

Tiempo de manipulación debe ser limitado para evitar el estrés.

- Exámenes complementarios
  - Test para hongo chitridio (PCR).
  - Hemograma y bioquímica sanguínea: No se recomienda tomar muestras de sangre de animales que pesan menos de 50 gramos por medida de seguridad.
  - Cultivo de bacterias
  - Citología.
  - Examen coproparasitológico
  - Necropsia e histopatología (cuando fallece un ejemplar)

- Principales Problemas de salud

- Hongos
  - Chitridiomycosis → El agente causal, *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd), es un hongo quítrido. La infección con Bd puede ser subclínica con mínimas lesiones de piel, o causar una enfermedad severa en la piel. El método de diagnóstico de elección es el PCR (Polymerase Chain Reaction) ya que detecta pequeños números de organismos y requiere muestras mínimamente invasivas (ejem: hisopado de piel).

El itraconazol es el tratamiento de elección. Se realizan baños diarios de cinco minutos con itraconazol al 0.01%. Este tratamiento se debe realizar en adultos, ya que animales más jóvenes no toleran esta dosis y puede causar mortalidad.

- Saprolegniasis → Puede que tenga un mayor impacto en huevos de anfibios. En los huevos afectados, las capsulas parecen tener una capa

delgada de pelusa blanca sobre la superficie. Al principio las lesiones son pequeñas áreas circulares despigmentadas, a veces con márgenes hemorrágicos. En casos avanzados, las lesiones pueden ser ulcerativas, penetrando a través de la piel y el tejido muscular.

Como tratamiento se realizan baños con itraconazol al 0.01% con solución salina al 0.6% durante 5 minutos cada 24 horas por 11 días.

- Parásitos

- Helmintos → Los trematodos son los parásitos de anfibios más reconocidos. En general, la enfermedad está asociada solo con un gran número de trematodos enquistados, adheridos o que migran a través de los tejidos del hospedero. Las lesiones generalmente resultan por trauma, compresión, o desplazamiento normal del tejido por la metacercaria enquistada, el cual es parte de su ciclo de vida. Tratamiento con la administración repetida de praziquantel.

Los nemátodos también son helmintos comunes que infectan a los anfibios desde el huevo hasta el estadio adulto y afectan a una variedad de órganos y tejidos. El tratamiento incluye la administración de varios regímenes antihelmínticos, ya sea vía oral o mediante baños con fenbendazol, levamisol, tiabendazol o ivermectina.

- Protozoarios → Muchos protozoos intestinales son comensales y no producen enfermedades. Las presentaciones gastrointestinales son más comunes, y los signos de amebiasis incluyen anorexia, pérdida de peso, diarrea, sangre en las heces y deshidratación. El tratamiento incluye terapia de soporte para contrarrestar la deshidratación y el compromiso gastrointestinal, así como administración oral o baños con drogas antiamebas como metronidazol

- Virus

- **Ranavirus** → Enfermedad sistémica se manifiesta con dos principales síndromes; la manifestación más severa incluye hemorragia y edema en órganos internos y, en la forma menos aguda, los animales afectados presentan eritema, ulceración o hiperplasia de la piel. Los renacuajos enfermos dejan de comer, permanecen al fondo del tanque, nadan de forma anormal y presentan deformaciones. Es común la distensión abdominal debido a la retención de fluidos y edema generalizado.

Diagnóstico: Histología, citología, aislamiento del virus, microscopia electrónica y técnicas molecular (PCR, electroforesis).

#### 7. Mortalidad

- Reportar a la ATFFS (Administración Técnica Forestal y de Fauna Silvestre).

## DISCUSIÓN

De los tres lugares donde se realizó el estudio, el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH) y el localizado en el museo de Bolivia, cuentan con instalaciones similares, mientras que en el Parque Zoológico Huachipa, al ser parte de una exhibición, el ambiente cuenta con componentes diferentes. Las instalaciones del Laboratorio de Vida Silvestre de la UPCH tienen acuarios con filtros, y algunas plantas artificiales y piedras de río, que son una buena opción ya que son fáciles de conseguir y se pueden reemplazar con frecuencia. Las instalaciones del zoológico intentan simular el fondo del lago debido a que se encuentra en exhibición para el público visitante. El substrato que utiliza también sirve para el crecimiento de microalgas que son parte de la alimentación de los renacuajos. En la naturaleza el renacuajo en su primera semana se alimenta del saco vitelino reabsorbido, posteriormente su alimentación se basa en fito y zooplancton. Luego de unas semanas, a medida que se aproxima la metamorfosis empiezan a ingerir anfípodos, como *Hyaella* sp, y caracoles (Ramos, 2000).

En dos lugares, Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH) y Parque Zoológico Huachipa, cuentan con plantas artificiales como parte de los acuarios debido a la facilidad para realizar la limpieza de los mismos. Un beneficio adicional de tener plantas artificiales es que estas no serán medio de transmisión de *Batrachochytrium dendrobatidis* a la colección animal como se sospecha que lo hacen las plantas vivas (Poole, 2008). En Bolivia emplean plantas naturales como *Elodea* sp.; sin embargo es necesario conocer la procedencia de las mismas, ya que pueden introducir enfermedades al ambiente. *Elodea* sp, es una planta acuática que se adapta fácilmente a una diversidad de ambientes (Bernardi, 1971).

El agua de caño es importante declorarla previamente antes de ser usada, debido a que el cloro ataca la capa mucosa protectora sobre la piel y puede predisponer a las ranas a infecciones (Wolfensohn & Lloyd, 1998). En los tres lugares se realiza el cambio de agua en periodos relativamente cortos pero el porcentaje que se cambia varía entre los tres. En el museo de Bolivia se

hacen cambios de agua en periodos más cortos y en el Parque Zoológico Huachipa, se cambia mayor cantidad de volúmenes de agua. Es importante hacer los cambios de agua para mantenerla fresca, ya que los anuros realizan intercambio de sustancias a través de la piel, siendo la principal el agua, la cual se obtiene principalmente a través de “parches de absorción,” localizados en la parte posterior del abdomen (Poole, 2008).

Dentro de los parámetros considerados importantes para medir la calidad de agua, podemos mencionar el pH. El pH del agua en el Laboratorio de Vida Silvestre y del Parque Zoológico Huachipa, es ligeramente menor a 8. De acuerdo a un estudio realizado en el lago Titicaca, se evidenció que la mayoría de las ranas (93%) prefieren el agua con un pH entre 8 y 8.5 (Genova, 2011); sin embargo el pH de estos lugares no parece afectarlas. Un pH del agua mayor a 7 es considerado un valor óptimo para el desarrollo de los anfibios (Pierce B et.al., 1984). Beattie and Tyler-Jones (1992) encontraron que un ambiente ácido puede alterar el balance iónico fisiológico en anfibios y reducir su crecimiento y supervivencia.

La dureza general del agua representa la concentración de sales bivalentes y se determina con la suma de calcio y magnesio disuelto en el agua. Se considera que el agua dura tiene mejores efectos en los anfibios debido a que el calcio y el magnesio pueden mejorar la osmoregulación y son necesarios para la formación ósea (Dodd, 2009). Además, el agua dura tiene una alta capacidad de amortiguamiento contra los cambios en el pH lo que provee condiciones más estables del agua (Hecna et al., 1996).

Los valores ideales del nitrito ( $\text{NO}_2$ ), son 0ppm, ya que la toxicidad por nitrito produce metahemoglobinemia y compromete el transporte de oxígeno de la sangre a los tejidos (Diana et al., 2001). En el Parque Zoológico Huachipa el nivel fue 0ppm, mientras que en Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH) el nivel fue 1ppm.

Los valores del nitrato ( $\text{NO}_3$ ) en el Laboratorio de Vida Silvestre y Parque Zoológico Huachipa fueron mayores comparados con los valores hallados en el estudio del lago Titicaca. La toxicidad directa del nitrato es pequeña, a diferencia del nitrito que puede crear problemas serios de

salud. Las bacterias del género de *Nitrosomonas* convierten el amoníaco en nitritos, mientras que las del género de *Nitrobacter* convierten los nitritos en nitratos. Este proceso se lleva a cabo en los filtros biológicos, por lo que estos valores son un indicador de la efectividad de los mismos (Odum, 2011). El nitrato puede ser reducido en el tracto gastrointestinal, especialmente en los juveniles, desde donde pasa a la sangre y altera la hemoglobina. Se forma así la metahemoglobina, que pierde su capacidad de transportar oxígeno y causa asfixia de tejidos (metahemoglobinemia), síndrome que puede ser mortal (Dappen, 1982). Los nitratos también pueden dar lugar a nitrosaminas, sustancias que tienen efectos cancerígenos a medio plazo (Dejours et al., 1989).

Los valores de amoníaco deben ser 0 ppm. Signos de toxicidad por amoníaco incluyen aumento de la producción mucosa, alteración en la pigmentación de la piel, y comportamiento o nado anormal (Whitaker, 2001).

Los niveles de luz UV-B solo se miden en Bolivia. Con una exposición adecuada de UV, se forma vitamina D<sub>3</sub> en la piel. La conversión de 7-dehydrocolesterol (precursor de vitamina D en la piel) a previtamina D<sub>3</sub> generalmente ocurre con una exposición de 285-315nm longitud de onda (UV-B). Cuando los requerimientos de vitamina D no se pueden cubrir con la dieta, el método más efectivo para promover la biosíntesis de la vitamina D es la exposición solar directa. Cuando no es posible la exposición solar directa o indirecta, es necesario luz artificial (Bernard, 1997). Niveles inadecuados de radiación UV-B, puede matar a los anfibios directamente, causar efectos subletales o actuar en conjunto con contaminantes, patógenos o con cambios climáticos para afectarlos de manera adversa. Los anfibios cuentan con diferentes mecanismos para limitar la exposición a la radiación UV-B o ayudar a reparar el daño inducido por la exposición (Blaustein, 2003). Así los anfibios evitan la luz del sol, poseen pigmentación que absorben los rayos UV, rodean los huevos con una mucosidad que los protege de los rayos UV, envuelven sus huevos en hojas o usan una variedad de mecanismos para reparar el daño por UV (Blaustein, 2003).

El ambiente en el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH) y en Bolivia, las peceras se mantienen con una temperatura (T°) controlada, ya que cuentan con un sistema de enfriamiento.

Mantener la temperatura apropiada del agua para los anfibios es una de las consideraciones más importantes para su salud general. Debe considerarse el microhábitat del ambiente del cual proviene cada especie. Es recomendable mantener las habitaciones donde se tiene anfibios ligeramente más frescas que la temperatura promedio requerida por la colección animal (Poole 2008). La temperatura promedio anual del lago Titicaca es 13°C, variando entre 11.25° y 14.35°, siendo la temperatura más baja en agosto y la más alta en marzo (Dejoux C, 1992).

La alimentación puede ser tanto con alimento vivo como con alimento pelletizado ya que es bien aceptado por los individuos adultos, como ya se vio en los lugares evaluados. Para esto se debe tener en cuenta que antes de empezar a mantener anfibios, uno de los puntos críticos es criar o conseguir el alimento vivo. En el caso de los juveniles, en Bolivia se observó que es necesario ayudarlos para que consuman lombrices de tierra simulando movimiento delante de ellos.

En el Parque Zoológico Huachipa no se realizó un periodo de cuarentena debido a que los animales al ser procedentes del Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH), ya habían pasado por este periodo, así que este laboratorio fue considerado como su cuarentenaria. Es importante ser muy cuidadosos en este periodo, debido a que los animales están bajo un estrés importante y puede ser perjudicial. Se deben realizar exámenes y tratamientos profilácticos adecuados, y repetir los exámenes de ser necesario. Este es un punto crítico ya que durante este periodo la tasa de mortalidad es bastante alta.

En los lugares de estudio, se emplean indicadores de bienestar animal de acuerdo a la especie, los cuales son: examen físico, longitud, peso, comportamiento, reproducción.

El Parque Zoológico Huachipa y en el museo de Bolivia, tienen por objetivo lograr la reproducción de la especie, en ambos lugares las condiciones de los recintos permitieron que se produzca con resultados favorables. Si bien el Laboratorio de Vida Silvestre (UPCH) no tenía esta finalidad, también se pudo evidenciar la reproducción.



## CONCLUSIONES

De acuerdo a la información recopilada de los diferentes lugares, es posible mantener a *Telmatobius culeus* en cautiverio. Esto es un buen indicador, lo que permitiría a futuro llevarse a cabo en otros lugares y con otros fines.

Los requerimientos para el manejo de los individuos, de acuerdo a los diversos factores, van a depender de los objetivos de mantenimiento en cautiverio de cada lugar. Cada lugar se adapta a las condiciones según su localización geográfica.

## BIBLIOGRAFÍA

Aguilar C, Ramirez C, Rivera, Siu-Ting K, Suarez J, Torres C. 2010. Anfibios andinos del Perú fuera de Áreas Naturales Protegidas: amenazas y estado de conservación. Rev. peru. biol. 17(1): 005- 028

Angulo A. 2008. Consumption of Andean Frogs of the Genus *Telmatobius* in Cusco, Peru: Recommendations for their Conservation. Traffic Bulletin. Vol. 21 N°. 3

Beattie RC, Tyler-Jones R. 1992. The effects of low pH and aluminum on breeding success in the frog *Rana temporaria*. J Herpetol 26:353-360.

Berenguel R. 2014. Presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* en la rana gigante del lago Titicaca (*Telmatobius culeus*) Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Bernard J. 1997. Vitamin D and Ultraviolet Radiation: Meeting lighting needs for captive animals. Nutrition Advisory Group Handbook. Fact Sheet 002.

Bernardi G. Diani G. 1971. Vegetación acuática – Identificación y métodos lancha. Barcelona, España; Oikos-tau, s.a. – ediciones.

Blaustein A. Romansic, J. Kiesecker, J. Hatch, A. 2003. Ultraviolet radiation, toxic chemicals and amphibian population declines. Diversity and Distributions 123–140.

Blaustein AR, Hokit DG, O'Hara RK. 1994. Pathogenic fungus contributes to amphibian losses in the Pacific Northwest. Biol Cons 67:251–254.

Catenazzi A, Vredenburg V, Lehr E. 2010. *Batrachochytrium dendrobatidis* in the live frog trade of *Telmatobius* (Anura: Ceratophryidae) in the tropical Andes. Diseases of aquatic organisms.

Chero et al. 2014. Parásitos gastrointestinales en tres especies de *Telmatobius* (anura: telmatobiidae) de la zona alto andina, Perú. Neotropical Helminthology. Vol.8, N°2, jul-dec, pp. 439-461.

Danhier E. Academic year 2010-2011. Training report presented with a view to obtain the diploma of Master in Biology of Organisms and Ecology (BOE). Université catholique de Louvain. 38p

Dappen G.E.1982. Effects of nitrates upon hemopoietic, lymphoid and vascular tissues of tadpoles and frogs. Proc. Nebraska Acaf. Sci. Affiliat. Soc., 92: 23.

Dejours P. Armand J. Beekenkamp H. 1989. Action de la température et de la taille sur la toxicité de l'ammoniac chez l'amphibien anoure *Xenopus laevis*. Acad. Sci. Paris, 309 : 363-368.

Dejoux C. Iltis A. 1992. Lake Titicaca: A synthesis of limnological knowledge. Kluwer Academic Publisher.

Department of Environment and Climate Change (NSW) 2008. Hygiene protocol for the control of disease in frogs. Information Circular Number 6. DECC (NSW), Sydney South.

Diana SG, Beasley VB, Wright KM. 2001. Clinical toxicology. In: Wright KM,Whitaker BR, eds. Amphibian Medicine and Captive Husbandry. Malabar FL: Krieger Publishing Company. p 223–232

Fontúrbel F. 2004. Producción sostenible y conservación de la rana gigante del lago Titikaka (*Telmatobius culeus*, Anura: *Leptodactylidae*): un nuevo desafío para La Paz. Bolivia. Ciencia Abierta Internacional 25, 10p. ISSN 0717–8948.

Fontúrbel F. Richard E. 2004. Propuesta de producción sostenible e industrialización de *Telmatobius culeus* (Anura, Leptodactylidae): hacia el manejo y la conservación de especies endémicas que apoyen al desarrollo sostenible en el lago Huiñaimarca (Bolivia).

Fowler M, Miller E. 2012. Zoo and Wild Animal Medicine. Current Therapy. Volume 7. Elsevier Inc. Missouri, EEUU.

Genova M. 2011. Density and habitat preferences of Lake Titicaca frog (*Telmatobius culeus*) at North-West of Copacabana peninsula. Master thesis report. Wageningen University.

Gentz E. 2007. Medicine and Surgery of Amphibians. ILAR Journal. Volume 48, Number 3

Hadfield CA, Whitaker BR. 2005. Amphibian emergency medicine and care. Semin Avian Exot Pet Med 14:79–89.

Hutchinson V, Haines H, Engbretson G. 1976. Aquatic life at high altitude: respiratory adaptations in the Lake Titicaca frog, *Telmatobius culeus*. Respiration Physiology. 27, 115-129

Ibrahim MMI. 2008. Helminth infracommunities of the maculated toad *Amietophrynus regularis* (Anura: Bufonidae) from Ismailia, Egypt. Diseases of Aquatic Organisms, vol. 82, pp. 19-26.

Icochea J. Reichle S. De la Riva I. Sinsch U. Köhler J. 2004. *Telmatobius culeus*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3.

Lehr E. 2005. The *Telmatobius* and *Batrachophrynus* species of Peru. *Monogr. Herpetol.* 7:39-64

Odum, A. Zippel, K. 2011. Water quality.

Pérez M. 2000. Parte IC: Recopilación de la información existente sobre la rana gigante del Lago (*Telmatobius culeus*). Evaluación de especies en vías de extinción, como el suri, la pisacca y la rana gigante en Bolivia. Parte I: Recopilación de la información existente. Informe técnico.

Pessier,P. 2012. Diagnosis and Control of Amphibian Chytridiomycosis.. Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine. ELSEVIER.EE.UU. Pag 217-223.

Pessier A, Mendelson J. 2009. A Manual for control of infectious diseases in amphibian survival assurance colonies and reintroduction programs. Proceedings from a Workshop. Zoological Society of San Diego.

Piper, Ross. 2007. Pushing the Boundaries: Surviving Extremes. Extraordinary Animals. *An Encyclopedia of Curious and Unusual Animals*. United States of America: Greenwood Press. Pag 259-261.

Poynton SL, Whitaker BR. 2001. Protozoa and metazoan infecting amphibians. In: Wright KM, Whitaker BR, eds. *Amphibian Medicine and Captive Husbandry*. Malabar FL: Krieger Publishing Company. p 193–221

Poole V. Grow, S. 2008. Guía para el Manejo de Anfibios en Cautiverio. Association of Zoos & Aquariums (AZA). Edición 1.1. EEUU.

Ray W. Notes on the andean frog, *Telmatobius culeus* (Garman). *Copeia*, No. 108 (Jul. 20, 1922), pp. 52-54.

Ramos, L. Gallegos, N. Sulma, L. 2000. Evaluación de la información disponible de suri, pisaca y rana gigante del lago. Universidad Nacional del Altiplano de Puno. Facultad de Ciencias Biológicas.

Richerson P, Widmer C, Kittel T. The limnology of Lake Titicaca (Peru-Bolivia), A Large, High Altitude Tropical Lake. Institute of Ecology Publication #14, June, 1977.

Schmitz M. Academic year 2011 – 2012. Internship Report in the view to obtain the Master's Degree 120 in Biology (BOE). Université catholique de Louvain. 47p.

VadilloS. 2002. Manual de Microbiología Veterinaria. Segunda Edición. McGraw Hill. Madrid, España.

Vellard J. 1951. Estudios sobre batracios andinos. Memoria N° 1. I.- El grupo *Telmatobius* y formas afines. Memorias del Museo de Historia Natural “Javier Prado”. Lima – Perú. (Biblioteca del Museo de Historia Natural “Javier Prado”-Lima).

Vellard J. 1991. Los Batracios. Dejoux C, Iltis A. El Lago Titicaca: síntesis del conocimiento limnológico actual. La Paz – Bolivia. Hisbol. Pag 453- 462

Weaver T, Garcia J, Elias R, Herbert M, Cortez C, Muñoz A, et al. 2011. Taller para establecer la Estrategia de Conservación de la Rana del Lago Titicaca (*Telmatobius culeus*). Puno: Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Nacional del Altiplano

Wright KM. 2006. Overview of amphibian medicine. In: Mader DR, ed. Reptile Medicine and Surgery. 2nd ed. St. Louis: Saunders, Elsevier. p 941–971.

Young B, Stuart S, Chanson J, Cox N, Boucher T. 2004. Disappearing Jewels: The Status of NewWorld Amphibians. NatureServe, Arlington, Virginia

Zevallos S. 2015. Presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* en *Telmatobius* spp. decomisados por la Administración Técnica Forestal y de Fauna Silvestre de Lima entre 2012 Y 2013. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Lima: Universidad Científica del Sur.

## **Anexo 1**

### **Mantenimiento en cautiverio de la rana del Lago Titicaca (*Telmatobius culeus*)**

Institución: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Responsable (Cargo que ocupa): \_\_\_\_\_

#### **I. Transporte**

#### **II. Cuarentena**

1. Medidas de bioseguridad
2. Tiempo
3. Exámenes
4. Métodos de identificación
5. Medidas de los contenedores
6. Dieta
7. Horario y frecuencia de alimentación
8. Luz
  - Ambiente
  - Acuario
9. Humedad
  - Ambiente
  - Acuario
10. Fuente y tratamiento del agua

#### **III. Alimentación**

1. Dieta:
  - Renacuajos
  - Juveniles
  - Adultos
2. Suplementos nutricionales
  - Renacuajos
  - Juveniles
  - Adultos
3. Cantidad
  - Renacuajos
  - Juveniles
  - Adultos
4. Horario y frecuencia

#### **IV. Luz**

1. Intensidad

- Habitación
- Acuario
- 2. Frecuencia de control
- 3. Nivel de UV-B
- 4. Frecuencia de control

#### **V. Temperatura**

- 1. Intensidad
  - Habitación
  - Acuario
- 2. Humedad
  - Habitación
  - Acuario
- 3. Herramientas y Frecuencia de control

#### **VI. Limpieza**

- 1. Tratamiento del agua
- 2. Frecuencia de extracción de residuos orgánicos
- 3. Frecuencia de cambio del 50% del volumen de agua de los acuarios

#### **VII. Variables**

- 1. Nivel de pH del agua
- 2. Nivel de alcalinidad de agua
- 3. Concentración de nutrientes
  - Amonio
  - Nitrito
  - Nitrato
  - Fosfato
- 4. Humedad
  - Ambiente
  - Acuario
- 5. Materiales y Frecuencia de control

#### **VIII. Control de los individuos**

- 1. Medidas

#### **IX. Acuarios**

- 1. Materiales
- 2. Tamaño (Medidas)
  - Renacuajos
  - Juveniles
  - Adultos
- 3. Población por acuario
  - Renacuajos



- Juveniles
- Adultos
- 4. Substrato
  - Renacuajos
  - Juveniles
  - Adultos
- 5. Frecuencia de cambio
- 6. Cantidad de agua
  - Renacuajos
  - Juveniles
  - Adultos
- 7. T° del agua
  - Renacuajos
  - Juveniles
  - Adultos

#### **X. Reproducción**

1. Comportamiento
2. Estímulos
  - Social
  - Factores Ambientales
3. Lugar de ovoposición

#### **XI. Salud**

1. Principales enfermedades
2. Tratamientos

#### **XII. Medidas de bioseguridad**

1. Productos de limpieza (Concentración de los productos)
2. Vestuario de trabajadores
3. Frecuencia de desinfección de los materiales y vestuario
4. Equipo de protección
5. Agua de desecho

#### **XIII. Muerte**

1. Contenedores e identificación
2. Estudios

#### **XIV. Otros**

1. Software

#### **Observaciones:**