

MÉTODOS PARA EL ESTUDIO DE LA DIETA EN ANFIBIOS ¿CUÁL ES EL MÁS ADECUADO PARA LAS ESPECIES CUBANAS?

L. Yusnaviel GARCÍA-PADRÓN*

Museo de Historia Natural "Tranquilino Sandalio de Noda" de Pinar del Río. Martí 202, esq. Cmdte Pinares.

* Autor para correspondencia: yusnaviel@gmail.com

INTRODUCCIÓN

RESUMEN: Las interacciones tróficas son importantes en la ecología de las especies debido a que la adquisición de las presas puede afectar la densidad poblacional, la fecundación individual, y puede influir directamente la dinámica poblacional. A nivel mundial varios métodos han sido utilizados para el análisis de la dieta de los anfibios, algunos de ellos con consecuencias letales para los individuos. El sacrificio de animales para obtener datos de dieta es bastante cuestionado porque existen otros métodos alternativos con muy buenos resultados. Se pretende sintetizar los métodos más utilizados para los análisis estomacales y exponer los métodos más actualizados, efectivos y menos invasivos para analizar la dieta de los anfibios cubanos. Datos obtenidos mediante el enjuague estomacal en Cuba arrojan la validación de este método, y otros alternativos, como los más adecuados para los análisis estomacales, teniendo en cuenta la alta fiabilidad de los datos y la baja mortalidad de los individuos. El propósito de estos métodos alternativos es reducir o erradicar el sacrificio de los animales en los estudios de dieta, contribuyendo así a su conservación

PALABRAS CLAVE: Anura, dieta, contenido estomacal, conservación, ecología trófica

ABSTRACT: METHOD FOR THE STUDY OF DIET IN AMPHIBIANS: WHICH METHOD IS MORE SUITABLE FOR CUBAN AMPHIBIANS? Trophic interactions are very important for the ecology of species, because the predator-prey relationship could affect the terrestrial population densities, individual fecundity, and can influence directly the population dynamics. Worldwide, the euthanasia of animals for dietary analyses is ethically questionable because alternative methods are available with good results. Summarized here are the most commonly used, effective, and less invasive methods for stomach analysis and which are the most adequate to Cuban amphibians. In Cuba, the recorded data from stomach flushing in amphibians has been determined to be the proper method for stomach analysis, along with alternative methods, because of the quality of the data and low death rate of studied individuals. The goal of the alternative methods are to reduce or eradicate the sacrifice of animals in diet studies, therefore contributing to their conservation.

KEYWORDS: Anura, conservation, diet, stomach contents, trophic ecology

Los estudios sobre la dieta de los animales son esenciales para valorar el flujo de energía y la red alimentaria en las comunidades, permitiendo explorar la conexión funcional entre los diferentes taxones en un ecosistema, que es la base fundamental para estudios ecológicos (Solé y Rödder, 2010). En el caso particular de los anfibios, los estudios sobre la dieta han ayudado a desarrollar estrategias de conservación mediante la adquisición del conocimiento sobre la historia natural de las especies, sus fluctuaciones poblacionales y el impacto de la modificación de los hábitats (Anderson, 1991).

Los anuros son reconocidos depredadores oportunistas y generalistas de la comunidad de invertebrados (Duellman y Trueb, 1986), la mayoría, como estrategia depredadora, emboscan a su presa (Pertel *et al.*, 2010). Se alimentan principalmente de artrópodos, moluscos, anélidos e incluso pequeños vertebrados (Solé y Rödder, 2010). Los tipos de presas están determinados por la especialización de cada anfibio a un grupo, o grupos, determinados (Freed, 1982). La especialización dietética en anfibios está asociada a características morfológicas, fisiológicas y de comportamiento que facilitan la localización, identificación, captura, ingestión y digestión de la presa (Solé y Rödder, 2010). La dinámica alimenticia varía entre especies, pero las diferencias son más obvias entre los tres mayores linajes de anfibios (Anura, Urodela y Gymnophiona), y entre especies (o estadios) que se alimentan en tierra o en agua (Solé y Rödder, 2010).

A nivel mundial varios métodos han sido utilizados para el análisis de la dieta de los anfibios, algunos de ellos con consecuencias letales y otros menos invasivos. Entre los más utilizados están 1). la extracción del estómago y el análisis de su contenido (Korschgen y Moyle, 1955; Lamb, 1984; Donnelly, 1991; Marshall y Camp, 1995), 2). anestesiar a los individuos y extraer los contenidos con fórceps y pinzas quirúrgicas (Hirai y Matsui, 1999, 2001), 3). enjuague estomacal (Legler y Sullivan, 1979; LeClerc y Courtois, 1993; Measey, 1998; Solé *et al.*, 2005; Mahan y Johnson, 2007), 4). vómito provocado (Naitoh *et al.*, 1989), y 5). observaciones *in situ* o en cautiverio. Algunos otros métodos menos invasivos se han puesto en práctica, como la video-documentación (*in situ* o *ex situ*), la regurgitación del

alimento provocada por presión abdominal y el análisis de los bolos fecales; todos con resultados no tan precisos y/o completos como los anteriores, pero que se utilizan alternativamente.

La dieta de los anfibios cubanos ha sido muy poco estudiada. La mayoría de los datos se han obtenido a través de observaciones fortuitas (Schwartz, 1958; Valdés y Ruíz García, 1977; Armas, 1987; Rodríguez Schettino, 2003; Fong *et al.*, 2009; Kaiser *et al.*, 2016; Mancina *et al.*, 2016), análisis de heces (Díaz *et al.*, 2001; Fong y Garcés, 2002; Díaz y Cádiz, 2006) y extracción del estómago a especímenes de vida libre o colecciones (Peters, 1974; Díaz y Fong, 2001; Díaz *et al.*, 2005, 2007). Valdés y Zayas (1980) fueron los primeros en Cuba en analizar la dieta de siete especies de *Eleutherodactylus* en el occidente de Cuba. Posteriormente, Sampedro *et al.* (1982) y Sampedro y Berovides (1985), analizaron la dieta de *Peltophryne peltocephala* en localidades de Cuba central. Más recientemente, Alonso *et al.* (2001) estudiaron la dieta de *Eleutherodactylus eileenae*, todos utilizando el método de extracción y análisis del estómago. En la actualidad existe incertidumbre sobre el uso del método más efectivo y menos dañino para las poblaciones de anfibios en Cuba. El propósito de esta revisión es sintetizar los métodos más utilizados para los análisis estomacales y proponer los métodos más efectivos y menos invasivos para el análisis de la dieta de los anfibios cubanos.

Se realizó una revisión de la bibliografía donde se hayan evaluado y/o comparado los métodos sobre análisis estomacales en anfibios, citándose sólo referencias que revisan y compilan métodos y/o que hicieron aportes a los métodos tratados en este artículo. Para Cuba se revisó lo que se ha publicado sobre dieta y análisis estomacales en anfibios.

MÉTODOS PARA EL ANÁLISIS ESTOMACAL EN ANFIBIOS

A lo largo del tiempo se han usado varios métodos para los análisis de dieta, en la Tabla 1 se resumen los más conocidos, usados y efectivos para estos propósitos a nivel mundial. A continuación, se ofrecen estos métodos con anotaciones adicionales, sus perjuicios y los beneficios de cada uno de estos métodos.

OBSERVACIÓN *IN SITU*

Este método es el menos invasivo y su aplicación es totalmente fortuita, por lo que los datos obtenidos son escasos. Por lo general estos son obtenidos como apoyo a otras investigaciones sobre ecología, reproducción, o simplemente obtenidos fortuitamente, porque resulta particularmente difícil observar un evento de esta naturaleza *in situ*. Algunos datos obtenidos con este método en Cuba han reforzado el conocimiento sobre la historia natural de algunas especies (Schwartz, 1958; Valdés y Ruíz García, 1977; Armas, 1987; Rodríguez Schettino, 2003; Fong *et al.*, 2009), pero el conocimiento aportado es incompleto. Es recomendable como uso alternativo y no como único método para el análisis de la dieta en anfibios.

EXTRACCIÓN DEL ESTÓMAGO

Es el método más fácil y el más usado (ver Korschgen y Moyle, 1955; Solé y Rödder, 2010), incluyendo estudios

en Cuba (Valdés y Zayas, 1980; Sampedro *et al.*, 1982; Sampedro y Berovides, 1985; Alonso *et al.*, 2001) por su efectividad, pero resulta lógicamente mortal para los individuos. Por la fidelidad de los datos obtenidos (se obtiene el 100% de la dieta consumida por el individuo analizado) y por la facilidad de su aplicación es uno de los métodos que puede ser utilizado en individuos de cualquier especie. Sin embargo, no es recomendable su uso en especies amenazadas, en poblaciones deprimidas y/o poblaciones que habitan en ecosistemas frágiles.

ENJUAGUE ESTOMACAL

Este método es muy efectivo, medianamente invasivo, y ha sido aplicado con buenos resultados en especies con longitud hocico-cloaca (lhc) entre 15 y 140 mm (Ovaska, 1991; Measey, 1998; Solé *et al.*, 2005; Mahan y Johnson, 2007; Luría-Manzano y Ramírez-Bautista, 2017). Pocas o ninguna muerte han sido detectadas cuando se ha utilizado este método (Measey, 1998; Solé *et al.*, 2005). Es el método no letal más utilizado a nivel mundial para análisis del contenido estomacal en anfibios (ver Legler y Sullivan, 1979; Solé *et al.*, 2005; Mahan y Johnson, 2007; Luría-Manzano y Ramírez-Bautista, 2017) y puede ser usado en el campo con efectividad sin que el animal resulte dañado (Grafe *et al.*, 2011). Ha sido usado también en lagartos con buenos resultados (Legler y Sullivan, 1979).

Este método puede ser aplicado en casi todos los anfibios cubanos, porque es relativamente sencillo de ejecutar, medianamente costoso y no suele ser mortal. La efectividad de este método es alta (Wu *et al.*, 2007), en la que se puede obtener entre 97-100% del contenido del estómago. En Cuba es fácilmente aplicable para anfibios de talla pequeña y mediana (15 y 120 mm lhc aproximadamente); en tanto, en anfibios de tallas grandes (<120mm) la efectividad del método puede decrecer debido a que grandes individuos consumen grandes presas, que son particularmente difíciles de extraer mediante la presión del agua (obs. pers.).

Para evaluar la efectividad de este método en anfibios cubanos se capturaron 64 individuos de 8 especies que representan una amplia diversidad de tamaños (Tabla 2). Posterior al enjuague estomacal los individuos fueron sacrificados y diseccionados para evaluar la cantidad de alimento que quedaba en el estómago. Se obtuvo que en el 90,6% de los individuos fue posible obtener el contenido del estómago mediante el enjuague y sólo 6 individuos quedaron con restos en el estómago. No obstante, en estos últimos los restos de alimentos encontrados en el estómago representaron, aproximadamente, menos del 20% del contenido total. En otros ensayos donde fue aplicado este método (datos inéditos) no se observó mortalidad, y especies forrajeadoras activas de suelo como *Eleutherodactylus klinikowskii*, *E. guanahacabibes* y *E. goini*, son capaces de alimentarse pocos minutos después al enjuague estomacal.

VÓMITO PROVOCADO

El método consiste en la aplicación de un emético (=vomitivo), que es una droga usada para inducir el vómito, usualmente utilizado en peces (Jernejcic, 1969; Hyslop, 1980) y en anuros (Naitoh *et al.*, 1989). Es un método medianamente invasivo que puede ser aplicado de forma oral o como inyección subcutánea o intravenosa (Naitoh,

Tabla 1. Métodos más usados y efectivos para el análisis de la dieta en anfibios.
Table 1. Most used and effective method for diet analysis in amphibians.

Métodos	Personal	Costo	Perjuicio	Beneficio	Uso	Referencias
OBSERVACIÓN IN SITU	1 o más	Alto	<ul style="list-style-type: none"> - Los datos obtenidos son muy incompletos. - Requiere de mucho tiempo y/o recursos técnicos. 	<ul style="list-style-type: none"> - Es el menos invasivo para los individuos evaluados. 	<ul style="list-style-type: none"> - Puede aplicarse en cualquier especie. 	<p>Schwartz, 1958; Valdés y Ruiz García, 1977; Armas, 1987; Rodríguez Schettino, 2003; Fong <i>et al.</i>, 2009</p> <p>Korschgen y Moyle, 1955;</p> <p>Valdés y Zayas, 1980; Sampedro <i>et al.</i>, 1982; Sampedro y Berovides, 1985</p>
EXTRACCIÓN DEL ESTÓMAGO	1	Bajo	<ul style="list-style-type: none"> - Muerte del animal. - No debe ser aplicado a anfibios con alto grado de amenaza. 	<ul style="list-style-type: none"> - Se obtiene el 100% del contenido estomacal. - Se obtiene tanto el contenido estomacal (presa ingerida inmediatamente) como el intestinal (presa ingerida con anterioridad). 	<ul style="list-style-type: none"> - Puede ser aplicado en individuos de cualquier talla. 	<p>Legler y Sullivan, 1979; Ovaska, 1991; Measey, 1998; Solé <i>et al.</i>, 2005; Mahan y Johnson, 2007</p>
ENJUAGUE ESTOMACAL	1-2	Medio	<ul style="list-style-type: none"> - Estrés al animal analizado. - No es tan efectivo en anfibios de talla inferior a 15mm y superior a 120mm longitud hocico-cloaca (lhc). 	<ul style="list-style-type: none"> - No es letal para los individuos, por lo que su uso contribuye a la conservación de las especies, no altera la dinámica poblacional ni el equilibrio en su nicho estructural y trófico. - Permite realizar estudios sobre dinámica temporal, espacial y estructural del nicho trófico de especies y/o individuos. - No es costoso económicamente ni de recursos humanos. - La obtención de los datos tiene una fiabilidad mayor al 90%. - Permite el estudio de la especie <i>in situ</i>, y ser analizada en corto tiempo (3 min.). - Puede ser aplicado en anfibios de todas las tallas y estadios (desde renacuajos hasta adultos). 	<ul style="list-style-type: none"> - Muy efectivo en anfibios entre 15-120mm lhc. 	<p>Legler y Sullivan, 1979; Ovaska, 1991; Measey, 1998; Solé <i>et al.</i>, 2005; Mahan y Johnson, 2007</p>
VÓMITO PROVOCADO	2-4	Alto	<ul style="list-style-type: none"> - Estrés al animal analizado. - Es costoso en recursos humanos y materiales. - Los químicos usados pueden ser dañinos a corto, mediano o largo plazo para los individuos analizados. - En algunos casos no se obtiene el 100% del contenido. - El vómito no suele ser inmediato. 	<ul style="list-style-type: none"> - Extracción de la mayoría del contenido estomacal (<90%) 	<ul style="list-style-type: none"> - Usado usualmente en anfibios de grandes tallas. 	<p>Naitoh <i>et al.</i> 1989</p>
EXTRACCIÓN A INDIVIDUOS ANESTESIADOS	3-5	Muy Alto	<ul style="list-style-type: none"> - Estrés al animal analizado. - Alto peligro de muerte del individuo, ya sea por el uso de la anestesia o por la manipulación. - Muy costoso económicamente. - No debe ser aplicado en especies con alto grado de amenaza. 	<ul style="list-style-type: none"> - Extracción de la mayoría del contenido estomacal (<90%) 	<ul style="list-style-type: none"> - Puede aplicarse en cualquier especie. 	<p>Legler y Sullivan, 1979; Hirai y Matsui, 1999, 2001</p>
ANÁLISIS DE HECES	1 o más	Bajo	<ul style="list-style-type: none"> - Los datos obtenidos son incompletos, pues solo se ven invertebrados con exoesqueleto y vertebrados. - Los invertebrados de cuerpos blandos y estadios tempranos de desarrollo de vertebrados (orugas, lombrices, babosas, renacuajos, etc.) son digeridas en su totalidad durante el proceso de digestión. - El animal tiene que estar en cautiverio un tiempo prolongado, lo que deviene en estrés. 	<ul style="list-style-type: none"> - Es, junto con la observación <i>in situ</i>, uno de los métodos menos invasivos. - Si bien no se puede obtener todo la dieta consumida, sí se puede obtener gran parte de ella. 	<ul style="list-style-type: none"> - Puede aplicarse a cualquier especie 	<p>Diaz <i>et al.</i>, 2001; Fong y Garcés, 2002; Diaz y Cádiz, 2006</p>

TABLA 2. Especies y cantidad de individuos analizados mediante el método de enjuague estomacal, se muestra el número de individuos a los que le fue posible extraer todo el contenido del estómago (N¹).

TABLE 2. Species and number of individuals analyzed using stomach flushing method, the number of individuals that was possible extract all it contents is shown (N¹).

Especies	N	LHC* (media ± DS)	N ¹
<i>Peltophryne fustiger</i>	7	86,02-157,24 (153,24±5,59)	5
<i>Eleutherodactylus dimidiatus</i>	5	19,92-44,06 (21,53±2,36)	4
<i>Eleutherodactylus klinikowskii</i>	10	17,6-24,46 (19,82±1,19)	9
<i>Eleutherodactylus riparius</i>	8	16,32-40,82 (28,52±14,78)	8
<i>Eleutherodactylus zeus</i>	5	68,6-114,5 (90,2±30,72)	4
<i>Eleutherodactylus zugii</i>	12	14,4-17,68 (15,38±0,66)	11
<i>Leptodactylus fragilis</i>	7	26,0-37,71 (32,98±4,35)	7
<i>Osteopilus septentrionalis</i>	10	66,6-89,75 (70,08±11,46)	10
Total	64		58

* LHC: longitud hocico-cloaca

et al. 1989). Es probable que este método pueda dañar a corto o largo plazo la vida de los individuos analizados, debido a la utilización de sustancias químicas que alteran los movimientos peristálticos en sus intestinos (Naitoh et al., 1989). Estos autores observaron que el uso de vomitivos no solo funciona de forma diferente para cada especie, sino que estas diferencias varían según el vomitivo que se utilice, la especie en la que se aplique, y su estadio (renacuajos, subadultos o adultos). En Cuba no existen referencias escritas sobre la aplicación de este método en anfibios. La obtención de resultados satisfactorios por este método pudiera no ser siempre la esperada.

EXTRACCIÓN DEL CONTENIDO A INDIVIDUOS ANESTESIADOS
Este método, como su nombre lo indica, se anestesia al animal y luego se le aplica el enjuague estomacal (Legler y Sullivan, 1979; Hirai y Matsui, 1999) y/o la extracción directa del contenido por medio de fórceps o pinzas quirúrgicas (Hirai y Matsui, 1999). Aunque se obtiene el 100% del contenido estomacal, los individuos pueden verse afectados debido a la anestesia (Legler y Sullivan, 1979), la manipulación y la aplicación de los fórceps en el interior del estómago en el proceso de extracción del contenido. Esta técnica debiera ser aplicada en laboratorios, donde existen todas las condiciones de seguridad para manipular a los individuos, por lo que los individuos a analizar han de ser trasladados, lo que les pudiera provocar estrés adicional. Es un método muy costoso y requiere de tres personas como mínimo para su adecuada aplicación.

ANÁLISIS DE HECES

Este es uno de los métodos menos invasivos junto con la observación *in situ*, pero sus resultados no son del todo completos. Pincheira-Donoso (2008) en un estudio realizado con lagartos comparó la confiabilidad de los datos obtenidos entre los análisis de las heces y el lavado estomacal, llegando a la conclusión de que el primero es más inexacto porque los organismos de cuerpos blandos (p. ej. larvas de escarabajos, lombrices, orugas, etc.) son consumidos en su totalidad durante el proceso digestivo. A pesar de esto es posible obtener hasta el 80% del contenido, aunque esto depende de la especie y del medio donde se

desenvuelva. En Cuba se han obtenido buenos resultados mediante la aplicación de este método (Díaz et al., 2001; Fong y Garcés, 2002; Díaz y Cádiz, 2006), pero solo como notas breves sobre la dieta de algunas especies analizadas.

Para este trabajo se realizó la comparación entre los métodos de enjuague estomacal y el análisis de heces de individuos recién capturados de *Peltophryne fustiger* (N = 4) y *Osteopilus septentrionalis* (N = 7). Los individuos se mantuvieron en cautiverio durante seis horas después del enjuague para recolectar las heces. Los análisis de enjuague estomacal arrojaron cantidades considerables de arañas, hemipteros, larvas de lepidópteros, larvas de escarabajos y escarabajos adultos, lombrices, dípteros, moluscos terrestres con concha (familia Helicinidae y Camaenidae) y babosas (familias Veronicellidae y Agriolimacidae), himenópteros, etc., en la dieta de ambas especies. Sin embargo en el análisis de las heces solo se identificaron las partes queratinizadas de algunos órdenes de insectos (Hymenoptera, Hemiptera y Coleoptera) y fragmentos de conchas de moluscos terrestres. Esto representó alrededor del 75% de los ítems obtenidos mediante el enjuague estomacal, en este último no se observaron organismos de cuerpos blandos (lombrices, babosas, larvas de insectos).

CONSIDERACIONES FINALES

La extracción del estómago para análisis de la dieta en especímenes de colecciones está justificada; sin embargo, en la actualidad el sacrificio de animales para obtener datos de dieta podría ser éticamente cuestionable dado que existen métodos alternativos con buenos resultados. Wu et al. (2007) compararon los dos métodos más usados para análisis de dieta en anfibios, la extracción del estómago y el enjuague estomacal, y sus resultados no mostraron diferencias significativas. Para estudios de la ecología trófica de los anfibios cubanos se sugiere fuertemente utilizar el método de enjuague estomacal. Este método, acompañado por el análisis de heces pudieran producir datos más completos de la dieta de las especies. Con la combinación de estos dos métodos se obtiene tanto el contenido estomacal como el intestinal. Estudios preliminares con anfibios cubanos de diferentes tallas no se detectó ninguna muerte cuando se aplicó el enjuague estomacal.

El método a utilizar para el estudio de la dieta dependerá del diseño experimental y de la especie a evaluar, teniendo en cuenta su morfología e historia natural. En el caso de las especies pequeñas de *Eleutherodactylus* (< 15mm LHC), donde el enjuague estomacal no es efectivo, se podrían emplear otros métodos. Los anfibios son un grupo altamente sensible a los cambios en las condiciones de los hábitats y el clima, lo que ha provocado el decline de muchas poblaciones. Debido a esto, no se recomienda el sacrificio de animales para obtener datos de dieta, sino el empleo de métodos alternativos como son el enjuague estomacal, el análisis de las heces y la observación *in situ* (Fig. 1).

AGRADECIMIENTOS: A Karina Velazco Pérez e Hiram González por las sugerencias durante la discusión sobre la idea original. Hilario Carmenate Rodríguez y Juan A. Castillo Pino por la ayuda durante el trabajo de campo. Al personal y dirección del Centro Nacional de Entrenamiento Espeleológico «Antonio Núñez Jiménez», Parque Nacional Viñales y Reserva de la Biosfera Sierra del Rosario. A John Fioroni y los revisores por las sugerencias al manuscrito.



FIGURA 1. *Eleutherodactylus zeus* observado durante la ingestión de una presa.

FIGURE 1. *Eleutherodactylus zeus* observed during the ingestion of a prey

REFERENCIAS

- Alonso, R., A. Rodríguez Gómez y A. R. Estrada. 2001. Patrones de actividad acústica y trófica de machos cantores de *E. eileenae* (Anura: Leptodactylidae). *Revista Española de Herpetología* 15: 45-52.
- Anderson, S. H. 1991. *Managing our Wildlife Resources*. Merrill Publishing Co., Columbus, OH.
- Armas, L. de. 1987. Depredación de arácnidos por dos vertebrados cubanos. *Miscelánea Zoológica* 34: 1-2.
- Díaz, L. M. y A. Fong. 2001. A new mottled frog of the genus *Eleutherodactylus* (Anura: Leptodactylidae) from eastern Cuba. *Solenodon* 1: 76-84.
- Díaz, L. M. y A. Cádiz. 2006. Pflege und vermehrung von *Bufo longinasus* Stejneger, 1905: Ein Beitrag zur Erhaltung dieser Art. *Aquaristik Fachmagazin & Aquarium heute* 38: 18-21.
- Díaz, L. M., A. R. Estrada y S. B. Hedges. 2001. A new riparian frog of the genus *Eleutherodactylus* (Anura: Leptodactylidae) from eastern Cuba. *Caribbean Journal of Science* 37 (1-2): 63-71.
- Díaz, L. M., A. Cádiz y N. Navarro. 2005. A new ground-dwelling frog of the genus *Eleutherodactylus* (Anura: Leptodactylidae) from eastern Cuba, and a reconsideration of the *E. dimidiatus* group. *Caribbean Journal of Science* 41 (2): 307-318.
- Díaz, L. M., A. Cádiz y N. Navarro. 2007. A new rock dwelling frog of the genus *Eleutherodactylus* (Amphibia: Leptodactylidae) from eastern Cuba, with comments on other species with similar habits. *Zootaxa* 1435: 51-68.
- Donnelly, M. A. 1991. Feeding patterns of the strawberry poison frog, *Dendrobates pumilio* (Anura: Dendrobates). *Copeia* 1991: 723-730.
- Duellman, W.E. y L. Trueb. 1986. *Biology of amphibians*. McGraw-Hill Publishing Company, USA.
- Freed, A. N. 1982. A treefrog's menu: selection for an evening's meal. *Oecologia* 53: 20-26.
- Fong G., A. y G. Garcés G. 2002. *Bufo taladai* (NCN). Diet. *Herpetological Review* 33 (4): 302.
- Fong, A., R. Alonso Bosch y A. Rodríguez. 2009. *Eleutherodactylus dimidiatus* (NCN) and *Eleutherodactylus intermedius* (NCN). Predator/Prey. *Herpetological Review* 40 (2): 203-204.
- Hirai, T. y M. Matsui. 1999. Feeding habits of the pond frog, *Rana nigromaculata*, inhabiting rice fields in Kyoto, Japan. *Copeia* 1999: 940-947.
- Hirai, T. y M. Matsui. 2001. Diet composition of the Indian rice frog, *Rana limnocharis*, in rice fields of central Japan. *Current Herpetology* 20: 97-103.
- Hyslop, E. J. 1980. Stomach contents analysis: a review of methods and their application. *Journal of Fish Biology* 17: 411-429.
- Jernejcic, F. 1969. Use of emetics to collect stomach content of Walleye and Large-mouth bass *Transactions of the American Fisheries Society* 98: 698-702.
- Joly, P. 1987. Le regime alimentaire des amphibiens: methods d'étude. *Alytes*, 6: 11-17.
- Kaiser, H., M. C. Chamberlain, T. Edwards, J. R. Nuñez, T. M. Rodríguez-Cabrera y J. Torres. 2016. Cannibalism in Cuba: first direct observations of Cuban treefrogs (*Osteopilus septentrionalis*, Hylidae) feeding on conspecifics in their native habitat, with a brief review of anurophagy and cannibalism in treefrogs. *IRCF Reptiles and Amphibians* 23 (1): 21-27.
- Korschgen, L. J. y D. L. Moyle. 1955. Food habits of the bullfrog in central Missouri farm ponds. *The American Midland Naturalist* 54 (2): 332-341.
- Lamb, T. 1984. The influence of sex and breeding condition on microhabitat selection and diet in the pig frog *Rana grylio*. *American Midland Naturalist* 111: 311-318.
- Leclerc, J. y D. Courtois. 1993. A simple stomach flushing method for ranid frogs. *Herpetological Review* 24: 142-143.
- Legler, J. M. y L. J. Sullivan. 1979. The application of stomach-fushing to lizards and anurans. *Herpetologica* 35: 107-110.
- Luria-Manzano, R. y A. Ramírez-Bautista. 2017. Diet comparison between rainforest and cave populations of *Craugastor alfredi* (Anura: Craugastoridae): does diet vary in contrasting habitats? *Journal of Natural History* 51 (39-40): 2345-2354.
- Mahan, R. D. y J. R. Johnson. 2007. Diet of the gray treefrog (*Hyla versicolor*) in relation to foraging site location. *Journal of Herpetology* 41 (1): 16-23.
- Mancina, C. A., L. Mas-Castellanos, y T. M. Rodríguez-Cabrera. 2016. Bat predation by a Cuban treefrog (*Osteopilus septentrionalis*, Hylidae) and a summary of bat predation by West Indian amphibians and reptiles. *IRCF Reptiles & Amphibians* 23: 82 -85.
- Marshall, J. L. y C. D. Camp. 1995. Aspects of the feeding ecology of the little grass frog, *Pseudacris ocularis* (Anura: Hylidae). *Brimleyana* 22: 1-7.
- Measey, G. J. 1998. Diet of feral *Xenopus laevis* (Daudin) in South Wales, U.K. *Journal of Zoology* 246: 287-298.
- Naitoh, T., R. J. Wassersug y R. A. Leslie. 1989. The physiology morphology and ontogeny of emetic behavior in anuran amphibians. *Physiological Zoology* (3): 819-843.
- Ovaska, K. 1991. Diet of the frog *Eleutherodactylus johnstonei* (Leptodactylidae) in Barbados, West Indies. *Journal of Herpetology* 25 (4): 486-488.
- Pertel, W., R. L. Teixeira y R. B. Ferreira. 2010. Comparison of diet and use of bromeliads between bromeli-

- colous and a bromeligenous anuran at an inselberg in the southeastern of Brazil. *Caldasia* 32 (1): 149-159.
- Peters, G. 1974. Notizen über die Batrachofauna del Insel Kuba. Mitteilungen des Zoologischen Museum in Berlin 50: 299-322.
- Pincheira-Donoso, D. 2008. Testing the accuracy of fecal-based analyses in studies of trophic ecology in lizards. *Copeia* 2008 (2): 322-325.
- Rodríguez Schettino, L. (ed.). 2003. *Anfibios y Reptiles de Cuba*. UPC Print, Vaasa, Finlandia.
- Sampedro Marín, A., V. Berovides Álvarez y O. Torres Fundora. 1982. Hábitos alimentarios y actividad de *Bufo peltocephalus* Tschudi (Amphibia: Bufonidae) en el Jardín Botánico de Cienfuegos. *Poeyana* 233: 1-14.
- Sampedro Marín, A. y V. Berovides Álvarez. 1985. Ecología trófica y actividad de *Bufo peltocephalus* (Amphibia: Anura) durante los periodos de seca y lluvia, en el Jardín Botánico de Cienfuegos. *Poeyana* 297: 1-8.
- Solé, M., O. Beckmann, B. Pelz, A. Kwet y W. Engels. 2005. Stomach-flushing for diet analysis in anurans: an improved protocol evaluated in a case study in Araucaria forests, southern Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 40 (1): 23-28.
- Solé, M. y D. Rödder. 2010. Dietary assessments of adult amphibians. Pp. 167-184, en: *Amphibian Ecology and Conservation. A handbook of techniques* (C. K. Dodd Jr., Ed.). Oxford University Press.
- Schwartz, A. 1958. Another new large *Eleutherodactylus* (Anura: Leptodactylidae) from Western Cuba. *Proceedings of the Biological Society of Washington* 71: 37-42.
- Valdés de la Osa, A. y F. Ruíz García. 1977. Caso de canibalismo en *Eleutherodactylus cuneatus* (Cope) (Salientia: Leptodactylidae). *Miscelanea Zoológica* 6: 4.
- Valdés de la Osa, A. y L. Zayas Montero. 1980. Observaciones alimentarias en anuros leptodactílicos de Sierra del Rosario. En Resúmenes del Primer Seminario Científico de la Sociedad Cubana de Ciencias Biológicas. *Ciencias Biológicas* 4: 123-124.
- Wu, Z. J., Li, Y. M., y Wang, Y. P. 2007. A comparison of stomach flush and stomach dissection in diet analysis of four frog species. *Acta Zoologica Sinica* 53: 364-372.