



Diversidad, límite de especies y distribución geográfica de *Espadarana andina* (Anura: Centrolenidae) en los Andes de Colombia: una aproximación bioacústica, genética y morfológica

Hader Correa Medina

Trabajo de grado para optar por el título de Biólogo

Asesor:

Mauricio Rivera-Correa PhD

Universidad de Antioquia
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Instituto de Biología
El Carmen de Viboral

2021

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	3
Palabras claves.....	3
INTRODUCCIÓN	3
MATERIALES Y MÉTODOS	6
Análisis acústico	6
Análisis genéticos	7
Análisis filogenéticos	8
Análisis morfométricos.....	8
Análisis estadísticos.....	9
RESULTADOS	10
Análisis acústicos	10
Análisis filogenéticos	12
Análisis morfométricos.....	12
DISCUSIÓN.....	13
Los cantos de anuncio del género <i>Espadarana</i>	14
Inferencia filogenética y distancias genéticas del género <i>Espadarana</i>	16
Variación morfométrica de las entidades evolutivas <i>Espadarana andina</i> , <i>E.</i> “central” y <i>E. prosoblepon</i>	19
CONCLUSIONES	20
AGRADECIMIENTOS	21
REFERENCIAS	22
TABLAS	31
FIGURAS.....	34
ANEXOS.....	41

RESUMEN

En taxonomía está cobrando fuerza en los últimos años el uso de enfoques integradores para soportar hipótesis sobre el límite de especies. La acústica, la genética y la morfología son poderosas herramientas para la delimitación de entidades evolutivas con incertidumbres taxonómicas, debido al amplio conjunto de caracteres informativos que estas fuentes de evidencia poseen. Por ello, usamos especies y poblaciones del género *Espadarana* presentes en las Cordilleras Central y Oriental de Colombia como modelo de investigación, con el objetivo de revelar el estado taxonómico y proporcionar evidencia sobre sus relaciones filogenéticas, su divergencia acústica, genética y morfológica. A la luz de nuestros resultados, inferimos que las poblaciones de la Cordillera Central aquí denominada como *Espadarana* “central” son una entidad evolutiva independiente, por lo tanto, constituyese una nueva especie candidata confirmada. Adicionalmente, realizamos la descripción del canto de anuncio de *Espadarana* “central” en un contexto comparativo con las especies más estrechamente relacionadas dentro de nuestra hipótesis filogenética (*E. andina* y *E. prosoblepon*). Nuestros resultados indican que a partir de la integración de diferentes fuentes de evidencia se pueden obtener hallazgos taxonómicos importantes, aún en especies comunes en los ecosistemas montañosos de los Andes.

Palabras claves: Taxonomía integradora, canto de anuncio, hipótesis filogenética, *Espadarana*, acústica, genética y morfometría.

INTRODUCCIÓN

Uno de los objetivos fundamentales de la biología comparada y en particular de la taxonomía es documentar, delimitar, describir y nombrar las especies que habitan la tierra (Winston, 1999; Agnarsson y Kuntner, 2007). Actualmente es un gran desafío dado que las especies están

desapareciendo a un ritmo más acelerado que los procesos de documentación y descripción (Pimm y Raven, 2000; Thomas *et al.*, 2004; Goulding y Dayrat, 2016), impidiendo conocer las cifras reales de la biodiversidad. De allí la importancia de clarificar el estatus taxonómico de grupos complejos o con límites de especies difusos.

La taxonomía integradora (Dayrat, 2005; Will *et al.*, 2005; Schlick-Steiner *et al.*, 2010), a pesar de algunas discusiones con la conceptualización del término (Will *et al.*, 2005; Valdecasas *et al.*, 2007; Padial *et al.*, 2010) se ha constituido como una idea ampliamente conocida que recomienda incorporar diferentes herramientas analíticas y la evaluación de múltiples líneas de evidencia para la delimitación de entidades taxonómicas. Este concepto sugiere que la integración facilita la estimación de linajes evolutivamente independientes por el uso de la mayor cantidad de fuentes de información disponible (Dayrat, 2005). Es así como, el uso comparativo de la morfología, genética y atributos de historia natural otorgan recursos necesarios para la identificación y delimitación entre especies, cobrando mayor fuerza en el marco del concepto evolutivo de especie (ver Wiley, 1978; Wiley y Mayden, 2000; Agapow *et al.*, 2004; de Queiroz, 2007).

Espadarana es uno de los 12 géneros de la familia Centrolenidae (comúnmente conocidas como las ranas de cristal por su piel ventral translúcida, presente en muchas de sus especies), se encuentra constituido actualmente por cinco especies, *Espadarana andina* (Rivero, 1968), *E. audax* (Lynch y Duellman, 1973), *E. callistomma* (Guayasamin y Trueb, 2007), *E. durrellorum* (Cisneros-Heredia, 2007) y *E. prosoblepon* (Boettger, 1892). *Espadarana* se distribuye en tierras bajas y medias de América Central (Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Panamá), en el Pacífico de Colombia y Ecuador, y en los bosques de niebla de los Andes en Colombia; además, en la Cordillera de Mérida y la Serranía del Perijá en Venezuela (Frost, 2020; Guayasamin *et al.*, 2009;

Guayasamin *et al.*, 2020). El género es diagnosticado por la presencia de espinas humerales conspicuas en machos adultos, región ventral anterior blanca y posterior transparente, presencia de membrana interdigital moderada entre los dedos manuales III y IV, huesos verdes en vida, articulación del cuadrado-yugal con el maxilar y presencia de dientes vomerinos (siendo este último atributo una de las diferencias morfológicas con el género *Centrolene*; Guayasamin *et al.*, 2009). Sin embargo, a nivel de especie su determinación ha sido más compleja, debido a las limitadas variaciones morfológicas, lo que ha llevado a la búsqueda de otras líneas de evidencia para lograr distinción entre grupos (Guayasamin *et al.*, 2020).

Espadarana andina se distribuye en la Cordillera Oriental de Colombia y ha sido recuperada como especie hermana de *Espadarana* sp. (MHUA 4099), una entidad actualmente con incertidumbre taxonómica y distribuida en la Cordillera Central, en el departamento de Antioquia (Guayasamin *et al.*, 2009). Aunque se revelaron distancias genéticas importantes entre estas dos entidades (i.e. 3,49% para el marcador 16S del ARNr) ningún comentario o inferencia taxonómica fue discutida (ver Guayasamin *et al.*, 2009). Posteriores estudios filogenéticos de la familia Centrolenidae incluyeron secuencias de especies ausentes en análisis previos, y nuevamente recuperan a *E. andina* y *Espadarana* sp como linajes hermanos (Towney *et al.*, 2014; Castroviejo–Fisher *et al.*, 2014; Guayasamin *et al.*, 2020).

Algunos estudios sobre *Espadarana andina* se han llevado a cabo en poblaciones de la Cordillera Oriental de Colombia, la Cordillera de Mérida y la Serranía de Perijá de Venezuela, (Rivero, 1968; Ruiz-Carranza y Lynch, 1991; La Marca, 1994; Ruiz-Carranza y Lynch, 1995; Señaris y Ayarzagüena, 2005; Guayasamin y Barrio-Amóros, 2005; Rada y Guayasamin 2008; Rojas-Runjaic *et al.*, 2012; Cabanzo-Olarte y Ortega, 2017; Cabanzo-Olarte y Ortega, 2018; Guayasamin *et al.*, 2020). Por el contrario, poca investigación ha sido desarrollada con los

individuos de la entidad denominada bajo el nombre *Espadarana* sp de la Cordillera Central de Colombia (sensu Guayasamin *et al.*, 2009), a pesar de los reportes en diferentes localidades del Norte de los Andes en el departamento de Antioquia (base de datos MHUA). Lo que sugiere la importancia de realizar una revisión a profundidad de *E. andina* y *Espadarana* sp para comprender su diversidad, límites geográficos y taxonómicos. Dado lo anterior, este trabajo evaluó algunas poblaciones de *Espadarana* presentes en la Cordillera Central del departamento de Antioquia, Colombia, incluyendo *Espadarana prosoblepon*, *Espadarana* sp. (en adelante *Espadarana* “central”) comparada con *E. andina* de la Cordillera Oriental, integrando evidencia obtenida de acústica, genética y morfología. El objetivo es inferir la posición filogenética a partir de nuevos especímenes, su divergencia acústica, genética y morfológica de algunas de sus poblaciones a lo largo de la distribución y con ello elucidar su estatus taxonómico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Análisis acústico. Analizamos un total de 364 cantos correspondientes a 23 individuos de tres especies diferentes del género *Espadarana* (*E. andina*, *E. “central”* y *E. prosoblepon*), estos provenían de tres diferentes localidades (Tabla 1, Fig. 1 y Fig. 2). Realizamos las grabaciones con grabadoras de los modelos TASCAM DR22-WL y TASCAM DR-40 con micrófono unidireccional SENNHEISER ME66/K6, para los individuos de las localidades en los municipios de Valdivia y Yarumal (departamento de Antioquia), y una Panasonic (RR-QR230) en el caso de algunos machos grabados en el municipio de Floridablanca (departamento de Santander, datos obtenidos de la investigación de Cabanzo-Olarte y Ortega del 2017). Obtuvimos las temperaturas ambientales a partir de Triple-Sensor Casio Sgw-1000. Registramos los cantos a 44,1 kHz y 16 bits de resolución. Analizamos los espectros con una ventana Hann al 90% de superposición, 256 puntos de resolución para la transformación rápida de Fourier (FFT) y una red de frecuencias DFT de 2048. Editamos

todos los cantos empleando Audacity V.2.3.2 (Audacity®, 2019), posteriormente los analizamos mediante Raven Pro V.1.6 (Cornell Laboratory of Ornithology, NY, EE. UU.). Por último, realizamos los gráficos (espectrogramas, oscilogramas y espectros de poder) mediante el paquete de Seewave 2.1.3 (Sueur *et al.*, 2008) en la versión R 3.6.3 (R Core Team, 2019). Medimos parámetros acústicos cuantitativos siguiendo recomendaciones de Köhler *et al.* (2017), (1) duración de canto (s), (2) frecuencia dominante (kHz), (3) frecuencia mínima (kHz), (4) frecuencia máxima (kHz), (5) ancho de banda (BW 90%), (6) número de pulsos por canto e (7) intervalo silencioso entre cantos (s). Además, los valores de frecuencia modulada para cada entidad evaluada los calculamos siguiendo la metodología sugerida por Emmrich *et al.* (2020) (Tabla S6). Representamos los valores como media \pm desviación estándar seguido del rango (Tabla 3 y Tablas S1).

Análisis genéticos. Para establecer la posición filogenética de las tres especies modelo, analizamos un total de 56 secuencias del gen mitocondrial citocromo c oxidasa I (COI) y 105 secuencias de la sub unidad ribosomal 16S (ARNr 16S), provenientes de todos los géneros de la familia Centrolenidae y de la familia Allophryniidae. Obtuvimos la mayoría de las secuencias de las plataformas GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) y BOLDSYSTEMS (<http://www.boldsystems.org/>) (Tabla S2). Además, generamos 21 nuevas secuencias para COI y 7 nuevas secuencias para ARNr 16S a partir de recientes colecciones del Grupo Herpetológico de Antioquia y del Semillero BIO (Tabla S2). Para las secuencias propias realizamos la extracción de ADN a partir del tejido conservado en etanol (96%), se usó el kit GeneJET Genomic DNA Purification (Thermo Fisher Scientific, Inc.). Luego, amplificamos las secuencias de los genes COI y ARNr 16S (cebadores: dgLCO–dgHCO, Folmer *et al.*, 1994; 16SCL–16SDH, Santos *et al.*, 2003) en el Laboratorio Molecular del Grupo Herpetológico de Antioquia para algunas especies de la

familia Centrolenidae (Tabla S2, vouchers en negrita). Seguimos los protocolos para la amplificación planteados por Santos *et al.* (2003) y Pinto-Sánchez *et al.* (2012). Los productos de PCR fueron enviados a secuenciar a las instalaciones de Macrogen en Corea (Macrogen, inc.). Una vez recibimos los cromatogramas editamos las secuencias utilizando el programa BioEdit V.7.2.5 (BioEdit Sequence Alignment Editor). Realizamos una matriz de alineamiento usando el programa BioEdit, esta posteriormente se llevó a la plataforma de MAFFT (versión online; Katoh, 2019), donde se modificaron los parámetros “Gap Penalty” con un valor de 5.0 y el “Offset value” a un valor de 1.0, los demás parámetros no fueron modificados. Una vez alineados los marcadores genéticos los concatenamos con el programa MEGA X (Kumar *et al.*, 2018), no se realizó ninguna corrección manual a las secuencias, las dejamos tal como los arroja el programa de alineamiento empleado.

Análisis filogenéticos. La inferencia filogenética fue a partir de un análisis de Maximum Likelihood (ML) usando W-IQTREE (Nguyen *et al.*, 2015; Trifinopoulos *et al.*, 2016), usamos ModelFinder (Kalyaanamoorthy *et al.*, 2017) para evaluar el mejor modelo de evolución molecular. Así mismo, para calcular el soporte de las ramas usamos Ultrafast Bootstrap de 10000 pseudoreplicas disponible en W-IQ-TREE (Minh *et al.*, 2013). Observamos y editamos los árboles obtenidos a través de FigTree v1.4.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>). Calculamos las distancias genéticas con el modelo de *p-distance* sin corregir por pares entre las especies muestreadas de la familia Centrolenidae, utilizando los marcadores genéticos COI y ARNr 16S, esto lo obtuvimos mediante el software MEGA X (Kumar *et al.*, 2018).

Análisis morfométricos. Medimos un total de 98 individuos de diferentes localidades (Tabla S3 y Fig. 2), incluyendo ejemplares almacenados en el Museo de Herpetología Universidad de Antioquia (MHUA) y en la colección de la Universidad Industrial de Santander (UIS), además

realizamos colectas de especímenes temporalmente bajo número de campo (MRC; Mauricio Rivera-Correa) que posteriormente serán depositados en el MHUA. Medimos 11 variables morfométricas basándonos en Cisneros-Heredia y Mcdiarmid (2007) y haciendo uso de un calibrador digital (Mitutoyo CD-6''CSX). Estas medidas son: (1) longitud rostro-cloaca (LRC); (2) longitud de la cabeza (LC); (3) ancho de la cabeza (AC); (4) longitud de la tibia (LT); (5) longitud del muslo (LM); (6) longitud del pie (LP); (7) diámetro del ojo (DO); (8) distancia ojo-narina (DON); (9) distancia entre narinas (DIN); (10) distancia interorbital (DIO); (11) diámetro del disco del tercer dedo (DD3D).

Análisis estadísticos. Realizamos una ANOVA para las variables acústicas y morfométricas posterior a la evaluación de la normalidad (Shapiro-Wilk; Patrick Royston, 1995) de los datos y la homogeneidad de varianzas, también empleamos pruebas de normalidad multivariada (Test Royston; Korkmaz et al. 2014), esto con el fin de encontrar y probar diferencias significativas entre los grupos (especies). Después del ANOVA ejecutamos una prueba post hoc Tukey HSD para determinar cuáles entidades diferían significativamente en los parámetros acústicos y morfométricos. Primero usamos los valores promedio de los seis parámetros como variables, para un análisis de componentes principales (ACP). Luego incluimos los puntajes generados para cada factor como variables independientes para un análisis de función discriminante (AFD). Para el análisis de las variables morfométricas, realizamos un ACP con el fin de reducir las dimensiones de las 11 variables y sobre los puntajes generados efectuamos un AFD para determinar las diferencias morfométricas entre los grupos evaluados. Ejecutamos todos los análisis estadísticos con el software R versión 3.6.3 (R Core Team, 2020).

RESULTADOS

Análisis acústicos. En total analizamos 146 cantos de anuncio de nueve machos de *Espadarana andina*, registrados y grabados al borde de carretera, a una altura promedio de 1,5 metros. La temperatura promedio durante las grabaciones fue de $20,9 \pm 2,5$ °C (18,2 – 23,0 °C). El canto de anuncio presenta amplitud modulada y consta de una sola nota con múltiples pulsos (siete en promedio; Fig. 3A). La frecuencia dominante mostró variaciones a lo largo del canto, $F_{dom}/ms = 2,181 \pm 2,096$ Hz/ms (-0,515 – 5,373 Hz/ms), además, el espectro de poder mostró múltiples picos lo que nos puede indicar que existen oscilaciones de la frecuencia dominante (Fig. 3C). La duración promedio fue de $0,044 \pm 0,007$ s (0,033 – 0,051 s) y la frecuencia dominante promedio de $5,062 \pm 0,186$ kHz (4,815 – 5,378 kHz) (Tabla 2). Para *Espadarana* “central” analizamos 174 cantos de anuncio pertenecientes a 10 machos encontrados cerca de quebrada, estos fueron observados sobre vegetación riparia a una altura promedio de 2,0 metros. La temperatura promedio del aire durante las grabaciones fue de $19,1 \pm 0,6$ °C (18,3 – 20,0 °C). El canto de anuncio está compuesto por una sola nota pulsátil, ocho pulsos en promedio estructurados de manera similar entre ellos, pero distinguibles (Fig. 3D). La frecuencia dominante cambia a lo largo del canto, $F_{dom}/ms = 1,428 \pm 0,649$ Hz/ms (0,489 – 2,254 Hz/ms). La duración promedio fue de $0,068 \pm 0,009$ s (0,054 – 0,080 s) y la frecuencia dominante promedio de $4,899 \pm 0,169$ kHz (4,597 – 5,070 kHz) (Tabla 2). Además, observamos que el ancho de banda (90%) presentado en el espectrograma fue notablemente inferior a *Espadarana andina* su grupo hermano (Fig. 3A y Fig. 3D). Para *E. prosoblepon* analizamos un total de 44 cantos de anuncio pertenecientes a cuatro machos encontrados cerca de quebrada, a una altura promedio de 2,0 metros. La temperatura promedio durante las grabaciones fue de $19,8 \pm 1,5$ °C (18,0 – 21,0 °C). El canto de anuncio está compuesto por dos notas distinguibles y pulsadas (13 pulsos en promedio), las cuales mostraron modulaciones

de amplitud (Fig. 3G). La frecuencia dominante de cada una de las notas que componen el canto de la especie mostró variaciones en la frecuencia dominante, Nota 1: $F_{dom}/ms = 3,198 \pm 1,928$ Hz/ms (1,251 – 5,657 Hz/ms); Nota 2: $F_{dom}/ms = 2,246 \pm 1,756$ Hz/ms (-0,049 – 4,173 Hz/ms). La duración promedio fue de $0,218 \pm 0,011$ s (0,207 – 0,231 s) y la frecuencia dominante promedio de $5,236 \pm 0,144$ kHz (5,106 – 5,366 kHz) (Tabla 2).

La prueba de normalidad mostró que las variables espectrales presentaron distribución normal ($p > 0,05$), mientras que las variables temporales se ajustaron a la prueba de normalidad multivariada (Royston = 0,222; $p > 0,05$). El ANOVA mostró diferencias significativas entre las especies para todas las variables ($p < 0,05$), excepto para el ancho de banda (90%) (Tabla 2). La prueba post hoc de Tukey HSD mostró una separación en tres entidades para la duración del canto, las frecuencias presentaron diferencias solo entre *E. prosoblepon* y *E. "central"* y la variable pulsos por canto mostró diferencias entre *E. prosoblepon* y las otras dos entidades (Tabla S4).

En el análisis de componentes principales (ACP), el primer componente principal (CP 1) explicó el 57,72% de la varianza total, el segundo componente principal (CP 2) explicó el 23,82%, el tercer componente principal (CP 3) explicó el 15,57% y el cuarto componente principal (CP 4) explicó el 2,75%, para un total del 99,87% de la varianza explicada por los cuatro primeros componentes (Tabla 3). Para el CP 1, las variables espectrales mostraron las cargas más altas exceptuando el ancho de banda (90%), para la CP 2 y CP 4 las asociaciones más fuertes se relacionaron las variables temporales y para la CP 3 el ancho de banda (90%) presentó el valor más alto. El análisis de función discriminante (AFD), que se realizó sobre las puntuaciones del ACP confirmó una separación significativa de las tres entidades evaluadas de *Espadarana* con el 100% de confianza (Fig. 4).

Análisis filogenéticos. La matriz de ADN concatenada obtenida fue de 1565 pb a partir de 125 secuencias nucleotídicas totales. El modelo de mejor ajuste para nuestro conjunto de datos fue TN+F+I+G4 para el primer sitio del codón, TIM3e+R3 para el segundo, HKY+F+I+G4 para el tercero en el gen COI, TIM2+F+I+G4 para la primera y tercera posición de ARNr 16S y TIM2+F+G4 para la segunda posición. La inferencia filogenética recuperó a todos los géneros de la familia Centrolenidae como monofiléticos, incluyendo al género *Espadarana* con alto soporte (Fig. 5 y Fig. S1). *Espadarana* fue rescatado como género hermano de *Cochranella* y al interior de *Espadarana*, el clado constituido por *E. audax* y *E. durrellorum* fue recuperado como hermano del resto de las especies del género. Recuperamos a *Espadarana andina* y *E. “central”* como especies hermanas, especímenes de poblaciones separadas por el Valle del Río Magdalena, formando dos clados con alto soporte (UFB > 98) y distancias genéticas entre dichos clados de 8,0 – 9,49% para COI y de 2,18 – 4,04% para ARNr 16S (Fig. 6 y Tabla 6). *Espadarana prosoblepon* no es monofilética ya que algunos individuos de Panamá (CH 6851, CH 6863, AJC 1776) y Valdivia, Antioquia (MRC 1588, MRC 1589) los recuperamos más estrechamente relacionados con *E. callistomma* (QCAZ 28555, QCAZ 33514) de la provincia de Esmeraldas, Ecuador y cuyas distancias genéticas para ARNr 16S estuvieron entre (1,49 – 2,41%) (Fig. 6 y Tabla 6).

Análisis morfométricos. *Espadarana andina* con un LRC de $25,151 \pm 1,448$ mm (23,403 – 27,837 mm), es más pequeña que *E. prosoblepon* $26,263 \pm 1,483$ mm (23,500 – 28,683 mm), pero más grande que *E. “central”*, siendo esta última en promedio la más pequeña de las tres con un LRC de $22,763 \pm 1,406$ mm (20,947 – 25,937 mm) (Tabla 4). Encontramos que dichas diferencias en LRC fueron significativas en los machos de las tres especies (ANOVA, $p < 0.05$; Tabla 4). El ANOVA arrojó diferencias significativas para las variables evaluadas entre las tres especies (Tabla 4). La prueba post hoc de Tukey HSD mostró una separación en tres grupos para cuatro de las variables

(LRC, LC, LT y LP), mientras en otras (AC, DO, DON, DIN y DIO) se superponen los grupos *Espadarana andina* y *E. prosoblepon*. En cuanto a las agrupaciones *E. andina* y *E. “central”* solo hubo intersección en tres variables (LM, DIN y DD3D) (Tabla S5). En el análisis de componentes principales (ACP), las primeras 5 componentes explican el 90,83% donde, el primer componente principal (CP 1) explicó el 66,41% de la varianza total, el segundo componente principal (CP 2) explicó el 7,82%, el tercer componente principal (CP 3) explicó el 6,57% (Tabla 5). El análisis de función discriminante (AFD), que realizamos sobre las puntuaciones del ACP confirmó una separación significativa de las tres entidades evaluadas del género con el 85% (Fig. 4).

DISCUSIÓN

La taxonomía integradora ha sido un enfoque empleado para la familia Centrolenidae en los más recientes años. Algunos trabajos han sido publicados para varios géneros, por ejemplo, en *Hyalinobatrachium* (Castroviejo–Fisher *et al.*, 2008; Castroviejo-Fisher *et al.*, 2011; Chávez *et al.*, 2019; Kubicki *et al.*, 2015; Mendoza-Henao *et al.*, 2020; Oliveira y Hernández-Ruz, 2017), en *Centrolene* (Castroviejo–Fisher *et al.*, 2009) y en *Cochranella* (Chávez *et al.*, 2019). No obstante, el género *Espadarana* no ha sido evaluado desde este enfoque, ya que las descripciones de las especies se han realizado bajo conjunto de datos exclusivamente morfológicos (Boettger, 1892; Cisneros-Heredia, 2007; Guayasamin y Trueb, 2007; Lynch y Duellman, 1973; Rivero, 1968). Aquí combinamos datos de diferentes líneas de evidencia (acústicos, genéticos y morfométricos) para evaluar la diversidad de algunas especies del género *Espadarana* y la relación, similitud y diferencias entre *E. andina*, *E. prosoblepon* y determinar el estatus taxonómico de *Espadarana* “central”.

Los cantos de anuncio del género *Espadarana*

Los patrones temporales y espectrales del canto de anuncio de *Espadarana andina* fueron congruentes con trabajos anteriores (Señaris y Ayarzagüena, 2005; Cabanzo-Olarte y Chinchilla, 2017; Cabanzo-Olarte y Chinchilla, 2018; Tabla 2) principalmente en la duración y en la frecuencia dominante. El canto se caracterizó por ser un canto modulado con un valor promedio de $F_{dom}/ms = 2,181 \pm 2,096$ Hz/ms (-0,515 – 5,373 Hz/ms), constituyendo una información novedosa para la especie. *Espadarana prosoblepon* la especie de más amplia distribución en el género ha sido ampliamente evaluada desde la perspectiva acústica (Jacobson, 1985; Guayasamin *et al.* 2020). Nuestra población de *E. prosoblepon* en Yarumal, Antioquia (Tabla 1), reveló que el canto de anuncio tuvo duración promedio similar al intervalo presentado por Guayasamin *et al.* (2020; Tabla 2), mientras, la frecuencia dominante promedio es menor a la reportada en trabajos previos (Jacobson, 1985; Guayasamin *et al.*, 2020; Tabla 2). Nuestros cantos analizados presentaron una modulación de la frecuencia dominante para cada una de las notas que lo componen, con valores promedio para la nota 1 de $F_{dom}/ms = 3,198 \pm 1,928$ Hz/ms (1,251 – 5,657 Hz/ms) y para la nota 2 de $F_{dom}/ms = 2,246 \pm 1,756$ Hz/ms (-0,049 – 4,173 Hz/ms), esta información no es comparable dado que la modulación se ha evaluado con una metodología diferente a esta (Guayasamin *et al.*, 2020), aunque no podemos descartar que las variaciones de éste atributo, estén asociadas a diferencias del tamaño corporal, factor estrechamente relacionado con las variables de energía (Escalona *et al.*, 2018; Gingras *et al.*, 2013; Turin *et al.*, 2018; Vélez y Guajardo *et al.*, 2020)

En este trabajo, además, describimos por primera vez el canto de anuncio para *Espadarana* “central” de Valdivia, Antioquia (Tabla 1). Este canto de anuncio presentó una duración promedio mayor a *E. andina* pero menor a *E. prosoblepon* (Tabla 2), en parte porqué el canto de ésta última está constituido por dos notas. La frecuencia dominante de *Espadarana* “central” fue muy similar

a *E. andina*, y menor a la de *E. prosoblepon* a pesar que el tamaño corporal de *E. “central”* es menor. Adicionalmente, los cantos de *E. “central”* presentaron una modulación de frecuencia con un valor promedio de $F_{dom}/ms = 1,428 \pm 0,649$ Hz/ms (0,489 – 2,254 Hz/ms), este valor es el más pequeño de las especies evaluadas, sugiriendo quizás que, existe una menor interferencia a la hora de emitir los cantos. Igualmente, el ancho de banda (90%) de *E. andina* es más amplio, al compararlo bajo la misma escala, respecto al que se logra observar en *E. “central”*, mostrando una posible diferencia cualitativa de algunos de los cantos de estas entidades evolutivas, esto puede estar asociado al tamaño corporal divergente de estas poblaciones o bien producto de variaciones evolutiva por los requerimientos ambientales en los cuales ocurren estas especies, pues los parámetros espectrales y las diferentes propiedades acústicas suelen estar bajo la influencia de estructuras morfológicas o variación inducida por factores abióticos (Morais *et al.*, 2012; Nali y Prado, 2014; Howard y Young, 1998).

Dado el vínculo entre los ancestros comunes de las especies estrechamente relacionadas a menudo se tiene una estructura bastante similar en sus cantos de anuncio (Goicoechea *et al.*, 2010), lo que refleja una conexión en la historia evolutiva del comportamiento y la anatomía de los órganos productores de sonidos, mostrando que los cantos de anuncio tienen alta señal filogenética (Escalona *et al.*, 2018). Nuestros resultados acústicos sugieren que, hay alta similitud estructural en los cantos de anuncio de las especies evaluadas, puesto que sus parámetros espectrales son relativamente similares (Tabla 2 y Tabla S1), mientras desde el punto de vista de la variable temporal, es decir, la duración del canto, vemos tres grupos claramente separados en nuestro contexto multivariado, diferenciando claramente a *Espadarana andina*, *E. “central”* y *E. prosoblepon* (Tabla 2 y Tabla S4). Ampliamente se ha documentado que los cantos de anuncio de los anuros se consideran útiles para distinguir especies hermanas morfológicamente similares

(Bickford *et al.*, 2007; Vences y Wake 2007; Padial y De la Riva 2009), al estar bajo presiones de selección sexual, se constituyen en fuertes barreras pre-cigóticas (Vélez y Guajardo *et al.*, 2020). Las variables acústicas de mayor uso para la delimitación de especies son la duración del canto, frecuencia dominante, tasa de pulsos y tasa de repetición de cantos (o tasa de repetición de las notas) (Köhler *et al.*, 2017). Teniendo en cuenta lo anterior, las variables temporales en términos acústicos tales como la duración del canto son a la luz de nuestro análisis, siendo el atributo más relevante para la separación entre *Espadarana andina* y *E. “central”* indicando que se trata de entidades evolutivas diferentes. Resultados similares fueron encontrados en otros trabajos, donde se resaltan los rasgos acústicos como una herramienta poderosa para la separación de especies hermanas (De Andrade *et al.*, 2017; De Andrade *et al.*, 2019; Guarnizo *et al.*, 2012). Por ejemplo, especies del género *Pseudopaludicola* presentan variaciones en atributos temporales mientras que, los rasgos espectrales son indistinguibles entre especies estrechamente relacionadas (De Andrade *et al.*, 2017; De Andrade *et al.*, 2019). En ese mismo sentido, Guarnizo *et al.*, (2012) encontró que los caracteres temporales fueron concluyentes para establecer límites de especies en el género *Dendropsophus*.

Inferencia filogenética y distancias genéticas del género *Espadarana*

A pesar de que nuestro muestreo fue diseñado para establecer la posición filogenética de *Espadarana andina*, *E. “central”* y *E. prosoblepon*, al interior del género, nuestra inferencia es similar a revisiones de la familia Centrolenidae (Guayasamin *et al.*, 2009; Towney *et al.*, 2014; Castroviejo–Fisher *et al.*, 2014; Guayasamin *et al.*, 2020). Aquí recuperamos la subfamilia Hyalinobatrachinae (*Hyalinobatrachium* + *Celsiella*), además rescatamos la relación entre *Centrolene* y *Nymphargus* (Fig. S1), y estas se encuentran más estrechamente relacionadas con la subfamilia Hyalinobatrachinae, a diferencia de trabajos previos donde esta subfamilia se presenta

como hermana del clado formado por la tribu Cochranellini + *Centrolene* y *Nymphargus*. Rescatamos la tribu Cochranellini (*Chimerella* + *Cochranella* + *Espadarana* + *Rulyrana* + *Sachatamia* + *Teratohyla* + *Vitreorana*) pero sin relación con el clado formado por *Centrolene* + *Nymphargus*, como se ha presentado previamente (Guayasamin *et al.*, 2009; Towney *et al.*, 2014; Castroviejo–Fisher *et al.*, 2014; Guayasamin *et al.*, 2020). Las diferencias podrían ser producto de la inclusión de solo dos marcadores mitocondriales, mientras que trabajos previos incorporaron en sus análisis un mayor número de secuencias y marcadores (Guayasamin *et al.*, 2009; Towney *et al.*, 2014; Castroviejo–Fisher *et al.*, 2014; Guayasamin *et al.*, 2020).

El género *Espadarana* fue recuperado como grupo monofilético y hermano de *Cochranella* tal como lo recuperó Guayasamin *et al.* (2009), sin embargo, en trabajos posteriores (Castroviejo–Fisher *et al.*, 2014; Guayasamin *et al.*, 2020) es *Chimerella* el linaje hermano, mientras *Cochranella* pasó a ser hermano del grupo formado por estos dos. Al igual que lo anterior, las diferencias pueden estar asociado a que nuestra matrix de datos solo empleó dos marcadores mitocondriales, ampliamente usados para inferir estrechas relaciones entre linajes recientes, pero con menor precisión para establecer relaciones en clados profundos (Guayasamin *et al.*, 2008, Zeng *et al.*, 2020), como lo hace los marcadores nucleares. Además, la especie del genero *Chimerella* carecía del marcador mitocondrial COI lo que pudo contribuir a rescatar diferente relación en nuestro trabajo. Al igual que trabajos previos, nosotros rescatamos a *Espadarana andina* como hermana de *E. “central”* (*Espadarana* sp. sensu: Guayasamin *et al.*, 2009; Castroviejo–Fisher *et al.*, 2014; Towney *et al.*, 2014; Guayasamin *et al.*, 2020). La diferencia es que en nuestro trabajo aumentamos notablemente el muestreo molecular de *E. “central”* para corroborar la posición filogenética al interior del género *Espadarana* e incluimos terminales de la Cordillera Central para *E. prosoblepon*.

Dentro del clado *Espadarana* “central” nosotros encontramos una estructura geográfica difusa dado que individuos de diferentes localidades se agruparon de manera dispersa en el árbol (Fig. 5 y Tabla S2) lo que nos da a entender que estamos ante una misma entidad evolutiva con distribución en diferentes zonas de la Cordillera Central de Colombia, que pudieron ser parte de una gran área geográfica conectada por bosques y quebradas y con flujo genético constante y el aislamiento entre las poblaciones es reciente. A pesar de ello las distancias genéticas al interior de la *E.* “central” pueden ser relativamente altas entre algunos individuos secuenciados, encontrando valores de 0,0 – 2,76% para ARNr 16S y de 0 – 4,57% para COI, incluso con valores más altos que algunas entidades taxonómicamente reconocidas en la familia (e.g. *Cochranella euknemos* y *C. mache* con valores entre 2,53 – 2,89% para ARNr 16S, Chávez *et al.*, 2019; *Hyalinobatrachium adespinosai* y *H. anachoretus* con valores de 1,0 – 1,1% para ARNr 16S, *H. yaku* y *H. pellucidum* con valores entre 2,5 – 3,0% para ARNr 16S, *H. adespinosai* y *H. esmeralda* con valores entre 2,54 – 2,72% para ARNr 16S, Guayasamin *et al.*, 2019). Esto indica que el uso amplio de muestreo molecular es determinante para conocer el nivel de variación y no sobreestimar la diversidad taxonómica en ciertos grupos, aspectos recientemente inferidos en otros géneros neotropicales como *Pristimantis* (Batista *et al.*, 2014; Rivera-Correa *et al.*, sometido).

Las distancias genéticas también proporcionan información sobre los límites de las especies basándose en la divergencia de secuencias nucleotídicas, de acuerdo con los umbrales para estas distancias (Bickford *et al.*, 2007; Fouquet *et al.*, 2007; Funk *et al.*, 2012). Las distancias genéticas entre *E. andina* y *E.* “central” se encontraron dentro del umbral generalmente usado del 3,0 % (ARNr 16s) y del 6,0 % (COI) para delimitar especies (Fouquet *et al.*, 2007; Vieites *et al.*, 2009; Lyra *et al.*, 2017) (Tabla 6; Fig. 6). Siguiendo los criterios propuestos por Vieites *et al.* (2009), *E.*

“central” estaría categorizada como una CCS (especie candidata confirmada) dado que supera el umbral genético y presenta las diferencias fenotípicas a nivel acústico previamente mencionadas.

Un resultado llamativo revelado por nuestra inferencia filogenética es que *Espadarana prosoblepon* la recuperamos como una especie parafilética, dado que *E. callistomma* de Ecuador se anidó con especímenes de *E. prosoblepon* de Panamá y Colombia (Fig. 5, Fig. S1 y Tabla S2), información ya mencionada en el trabajo de Guayasamin *et al.* (2020). Estos autores plantearon como explicaciones más probables para sus resultados las siguientes hipótesis: (i) La divergencia entre las dos especies es reciente y aún no se ha logrado la monofilia recíproca, (ii) *E. callistomma* es un sinónimo de *E. prosoblepon*, y (iii) *E. prosoblepon* es un complejo de especies que requiere una mayor subdivisión. Dados los datos morfológicos y acústicos disponibles, los autores están a favor de la primera y tercera hipótesis (Guayasamin *et al.*, 2020). El principal atributo fenotípico diagnóstico de *E. callistomma* fue la particularidad reticulada en el iris, aspecto desconocido en *E. prosoblepon*, esta última especie de amplia distribución. Nuestro resultado podría indicar que esta característica en *E. callistomma* se trataría de un atributo inusual para esa población ecuatoriana, no suficientemente informativo para considerar dos especies independientes y por lo tanto una sola especie actualmente con dos nombres. Dicho lo anterior, sugerimos aumentar el muestreo genético de las poblaciones de *E. callistomma*, además de una revisión profunda de caracteres fenotípicos que permitan mejorar el soporte de la especie o definir si esto se debe a que estamos ante una misma entidad evolutiva y así esclarecer su taxonomía.

Variación morfométrica de las entidades evolutivas *Espadarana andina*, *E.* “central” y *E. prosoblepon*

Aunque las decisiones taxonómicas en anuros y en particular en el género *Espadarana* no están estrechamente relacionadas a la naturaleza morfométrica de las mediciones, son una herramienta

útil para conocer la variación proporcional entre algunas de ellas. Es así como individuos de *Espadarana andina* medidos de diferentes localidades de Santander muestran tamaños similares para las variables reportadas por Rivero (1968) y Señaris y Ayarzagüena (2005) tanto para machos como para hembras. Notamos como es usual en anuros, un tamaño corporal en promedio mayor para las hembras (Duellman y Trueb, 1994; Wells, 2007), siendo estas un 4.8% más grandes que los machos. De igual manera para los especímenes de *E. prosoblepon* de las localidades de Antioquia y Santander encontramos tamaños corporales promedios similares a los presentados en trabajos ya publicados (Osorio-Dominguez y Quintero-Angel, 2012; Guayasamin *et al.*, 2020). Mientras que para los individuos de la Cordillera Central de Colombia identificados como *E. “central”* obtuvimos los primeros datos relacionados con medidas morfométricas para ambos sexos. Es de resaltar que, en cuanto a tamaño corporal (LRC), *E. andina* [25,151 ± 1,448 mm (23,403 – 27,837 mm)] se asemeja más a *E. prosoblepon* [26,263 ± 1,483 mm (23,500 – 28,683 mm)] que a *E. “central”* [22,763 ± 1,406 mm (20,947 – 25,937 mm)] su especie hermana.

La longitud del muslo entre *Espadarana andina* y *E. “central”* no revelaron diferencias significativas (Tabla S5), aunque esta última presenta un tamaño corporal menor, la longitud de las extremidades posteriores son de tamaños similares (Tabla 4). La longitud de las extremidades puede estar estrechamente relacionado con asociaciones ecológicas (Emerson, 1978, 1985; Gomes *et al.*, 2009), dados los hábitos arbóreos de la especie, sin embargo, estos aspectos alométricos, su función y las diferencias entre ambas especies requiere futuros estudios.

CONCLUSIONES

Nosotros evaluamos el estatus taxonómico de una entidad con incertidumbre taxonómica en la Cordillera Central de Colombia desde un enfoque integrador. A partir del análisis con múltiples

fuentes de evidencia recobran que *Espadarana* “central” es una entidad evolutiva independiente considerada posterior a nuestros análisis e inferencia como nueva especie candidata confirmada. La evaluación acústica ha cobrado fuerza como un atributo evolutivo relevante para delimitar especies de anuros, en nuestro caso particular encontramos diferencias en la duración del canto de las entidades catalogadas como hermanas por los resultados filogenéticos. El árbol recuperado con los marcadores mitocondriales usados (COI y ARNr 16S), confirmó a la entidad como suficientemente divergente desde la perspectiva molecular dentro del género *Espadarana* el cual fue recuperado con buen soporte y como un grupo monofilético. Aunque las inferencias deben valorarse con cautela, las distancias genéticas de *Espadarana* “central” y su especie hermana *E. andina* superan los umbrales de los marcadores mitocondriales considerados ampliamente en especies claramente diagnosticadas y delimitadas como entidades diferentes. Los datos morfométricos a menudo carecen de robustez y pueden tener una capacidad limitada para reconocer y delimitar especies, ya que no contemplan caracteres diagnósticos discretos, no obstante, incluimos las características morfométricas como línea de soporte, sugiriendo además separación entre *Espadarana andina* y *E. “central”*, en concordancia con los datos arrojados por las otras líneas de evidencia evaluadas en este trabajo. Nuestros resultados indican que a partir de la integración de diferentes fuentes de evidencia se pueden obtener hallazgos taxonómicos importantes, aún en especies comunes en los ecosistemas montañosos de los Andes.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor Mauricio Rivera-Correa por toda su paciencia, enseñanza y apoyo durante mis años de formación como biólogo. Al Museo de Herpetología Universidad de Antioquia (MHUA), al Museo de la Universidad Industrial de Santander (UIS), al Grupo de Herpetología de Antioquia (GHA), por permitirme acceder a sus colecciones de anfibios para la toma de datos. A Elson

Meneses-Pelayo, a Laura Camila Cabanzo-Olarte y a Jesús Eduardo Ortega-Chinchilla por todo su apoyo y colaboración al proporcionar información importante para el desarrollo de ésta investigación. Al Semillero de Investigación en Biodiversidad de Anfibios (BIO) de la Universidad de Antioquia, Seccional Oriente, por su apoyo en la toma de datos y salidas de campo. Este estudio contó con el apoyo financiero parcial del Comité de Desarrollo de la Investigación (CODI) de la Universidad de Antioquia en el marco del proyecto “Código de barras de ADN: Aproximación a la diversidad molecular de anfibios del norte, este y suroeste del departamento de Antioquia” (2017-17209) y una de las becas de la iniciativa Botas al Campo (2018) de la Asociación Colombiana de Herpetología (ACH). Finalmente, a mí familia, a mis amigos y a mi pareja por su apoyo incondicional durante todo mi proceso de formación como biólogo.

REFERENCIAS

- Agapow, P., Bininda-Emonds, O., Crandall, K., Gittleman, J., Mace, G., Marshall, J., y Purvis, A. (2004). The Impact of Species Concept on Biodiversity Studies. *The Quarterly review of biology*, 79, 161–79.
- Agnarsson, I., y Kuntner, M. (2007). Taxonomy in a Changing World: Seeking Solutions for a Science in Crisis. *Systematic Biology*, 56, 531–539.
- Batista, A., Hertz, A., Köhler, G., Mebert, K., y Vesely, M. (2014). Morphological variation and phylogeography of frogs related to *Pristimantis caryophyllaceus* (Anura: Terrarana: Craugastoridae) in Panama. *Salamandra*, 50, 155–171.
- Bickford, D., Lohman, D. J., Navjot, S. S., Ng, P. K. L., Meier, R., Winker, K., Ingram, K. K., y Das, I. (2007). Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, 22, 148–155.

- Böttger, O. (1892). Katalog der Batrachier-Sammlung im Museum der senckenbergischen naturforschenden Gesellschaft in Frankfurt am Main. Knauer.
- Cabanzo-Olarte, L. C., y Ortega-Chinchilla, J. E. (2017). Advertisement call of the glass frog *Espadarana andina* (Anura: Centrolenidae). *Herpetological Review*, 48 (3), 514–516.
- Cabanzo-Olarte, L. C., y Chinchilla, J. E. O. (2018). ANFIBIOS Y REPTILES DE COLOMBIA. *ANFIBIOS Y REPTILES*, 16.
- Castroviejo-Fisher, S., Señaris, J. C., Ayarzagüena, J., y Vilà, C. (2008). Resurrection of *Hyalinobatrachium orocostale* and notes on the *Hyalinobatrachium orientale* species complex (Anura: Centrolenidae). *Herpetologica*, 64 (4), 472–484.
- Castroviejo-Fisher, S., Guayasamin, J. M., y Kok, P. J. (2009). Species status of *Centrolene lema* Duellman and Señaris, 2003 (Amphibia: Centrolenidae) revealed by integrative taxonomy. *Zootaxa*, 1980 (1), 16–28.
- Castroviejo-Fisher, S., Vila, C., Ayarzagüena, J., Blanc, M., y Ernst, R. (2011). Species diversity of *Hyalinobatrachium* glassfrogs (Amphibia: Centrolenidae) from the Guiana Shield, with the description of two new species. *Zootaxa*, 3132 (1), 1–55.
- Castroviejo-Fisher, S., Guayasamin, J. M., Gonzalez-Voyer, A., y Vilà, C. (2014). Neotropical diversification seen through glassfrogs. *Journal of Biogeography*, 41 (1), 66–80.
- Chávez, G., Pradel, R., y Catenazzi, A. (2019). Integrative taxonomy reveals first country record of *Hyalinobatrachium mondolfii* Señaris and Ayarzagüena 2001, and distribution range extensions for *Cochranella nola* Harvey 1996, and *Rulyrana spiculata* Duellman 1976 (Anura: Centrolenidae) in Peru. *Zootaxa*, 4691 (5), 541–560.
- Cisneros-Heredia, D. F. (2007). A new species of glassfrog of the genus *Centrolene* from the foothills of Cordillera Oriental of Ecuador. *Herpetozoa*, 20 (1/2), 27–34.

- Dayrat, B. (2005). Toward integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85, 407–415.
- De Andrade, F. S., Haga, I. A., Bang, D. L., y Giaretta, A. A. (2017). The differential acoustic diagnosis between two *Pseudopaludicola* sister species (Anura, Leptodactylidae, Leiuperinae). *Zootaxa*, 4319 (2), 391–400.
- De Andrade, F. S., Da Silva, L. A., Koroiva, R., Fadel, R. M., y Santana, D. J. (2019). A new species of *Pseudopaludicola* Miranda–Ribeiro, 1926 (Anura: Leptodactylidae: Leiuperinae) from an Amazonia–Cerrado transitional zone, state of Tocantins, Brazil. *Journal of Herpetology*, 53 (1), 68–80.
- De Queiroz, K. (2007). Species concepts and species delimitation. *Systematic Biology*, 56, 879–886.
- Duellman, W. E., y Trueb, L. (1994). *Biology of amphibians*. JHU press.
- Emmrich, M., Vences, M., Ernst, R., Köhler, J., Barej, M. F., Glaw, F., Jansen, M., y Rödel, M. O. (2020). A guild classification system proposed for anuran advertisement calls. *Zoosystematics and Evolution*, 96, 515.
- Emerson, S.B. (1978). Allometry and jumping in frogs: helping the twain to meet. *Evolution*, 32, 551–564.
- Emerson, S.B. (1985). Jumping and leaping. In: *Functional Vertebrate Morphology* (M.E. Hildebrand, D. Bramble, K. Laim y D. Wake, eds), pp. 58–76. Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Escalona Sulbarán, M. D., Ivo Simões, P., Gonzalez-Voyer, A., y Castroviejo–Fisher, S. (2019). Neotropical frogs and mating songs: The evolution of advertisement calls in glassfrogs. *Journal of evolutionary biology*, 32 (2), 163–176.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., y Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3, 294–299.

- Fouquet, A., Gilles, A., Vences, M., Marty, C., Blanc, M., y Gemmell, N. J. (2007). Underestimation of species richness in Neotropical frogs revealed by mtDNA analyses. *PLoS one*, 2(10), e1109.
- Frost, D. R. (2020). Amphibian Species of the World: an online reference. Version 6 (DATE OF ACCESS). Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index>. American Museum of Natural History, New York, USA.
- Funk, W. C., Caminer, M., y Ron, S. R. (2012). High levels of cryptic species diversity uncovered in Amazonian frogs. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1734), 1806–1814.
- Gingras, B., Boeckle, M., Herbst, C. T., y Fitch, W. T. (2013). Call acoustics reflect body size across four clades of anurans. *Journal of Zoology*, 289 (2), 143–150.
- Goicoechea, N., De La Riva, I., y Padial, J. M. (2010). Recovering phylogenetic signal from frog mating calls. *Zoologica Scripta*, 39 (2), 141–154.
- Gomes, F. R., Rezende, E. L., Grizante, M. B., y Navas, C. A. (2009). The evolution of jumping performance in anurans: morphological correlates and ecological implications. *Journal of Evolutionary Biology*, 22(5), 1088–1097.
- Goulding, T., y Dayrat, B. (2016). Integrative Taxonomy: Ten years of practice and looking into the future. *Archives of Zoological Museum of Lomonosov Moscow State University*, 54, 116–133.
- Guarnizo, C. E., Escallón, C., Cannatella, D., y Amézquita, A. (2012). Congruence between acoustic traits and genealogical history reveals a new species of *Dendropsophus* (Anura: Hylidae) in the high Andes of Colombia. *Herpetologica*, 68(4), 523–540.
- Guayasamin, J. M., y Barrio-Amorós, C. (2005). Combat behavior in *Centrolene andinum* (Rivero, 1968) (Anura: Centrolenidae). *Salamandra*, 41(3), 153–155.

- Guayasamin, J. M., y Trueb, L. (2007). A new species of Glassfrog (Anura: Centrolenidae) from the lowlands of northwestern Ecuador, with comments on centrolenid osteology. *Zootaxa*, 1447(1), 27–45.
- Guayasamin, J. M., Castroviejo–Fisher, S., Ayarzagüena, J., Trueb, L., y Vilà, C. (2008). Phylogenetic relationships of glassfrogs (Centrolenidae) based on mitochondrial and nuclear genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48(2), 574–595.
- Guayasamin, J., Castroviejo–Fisher, S., Trueb, L., Ayarzagüena, J., Rada, M., y Vilà, C. (2009). Phylogenetic systematics of Glassfrogs (Amphibia: Centrolenidae) and their sister taxon *Allophryne ruthveni*. *Zootaxa*, 2100, 1–97.
- Guayasamin, J. M., Vieira, J., Glor, R. E., y Hutter, C. R. (2019). A new glassfrog (Centrolenidae: *Hyalinobatrachium*) from the Topo River Basin, Amazonian slopes of the Andes of Ecuador. *Amphibian y Reptile Conservation*.
- Guayasamin, J. M., Cisneros–Heredia, D. F., McDiarmid, R. W., Peña, P., y Hutter, C. R. (2020). Glassfrogs of Ecuador: diversity, evolution, and conservation. *Diversity*, 12 (6), 222.
- Howard, R. D., y Young, J. R. (1998). Individual variation in male vocal traits and female mating preferences in *Bufo americanus*. *Anim. Behav.*, 55, 1165–1179.
- Jacobson, S. K. (1985). Reproductive behavior and male mating success in two species of glass frogs (Centrolenidae). *Herpetologica*, 396–404.
- Kalyaanamoorthy, S., Minh, B. Q., Wong, T. K., Von Haeseler, A., y Jermin, L. S. (2017). ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature methods*, 14(6), 587–589.
- Katoh, K., Rozewicki, J., y Yamada, K. D. (2019). MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in bioinformatics*, 20(4), 1160–1166.

- Köhler, J., Jansen, M., Rodriguez, A., Kok, P. J., Toledo, L. F., Emmrich, M., Glaw, F., Haddad, C. F. B., Mark–Oliver, R., y Vences, M. (2017). The use of bioacoustics in anuran taxonomy: theory, terminology, methods and recommendations for best practice. *Zootaxa*, 4251(1), 1–124.
- Korkmaz, S., Goksuluk, D., y Zararsiz, G. (2014). MVN: An R package for assessing multivariate normality. *The R Journal*, 6(2), 151–162.
- Kubicki, B., Salazar, S., y Puschendorf, R. (2015). A new species of glassfrog, genus *Hyalinobatrachium* (Anura: Centrolenidae), from the Caribbean foothills of Costa Rica. *Zootaxa*, 3920(1), 69–84.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., y Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular biology and evolution*, 35(6), 1547.
- La Marca, E. (1994): Geographic distribution (Anura): *Centrolene andinum*. *Herpetological Review*, 25, 159.
- Lynch, J. D., y Duellman, W. E. (1973). A review of the centrolenid frogs of Ecuador, with descriptions of new species.
- Lyra, M. L., Haddad, C. F., y de Azeredo-Espin, A. M. L. (2017). Meeting the challenge of DNA barcoding Neotropical amphibians: polymerase chain reaction optimization and new COI primers. *Molecular Ecology Resources*, 17(5), 966–980.
- Mendoza–Henao, A. M., Arias, E., Townsend, J. H., y Parra–Olea, G. (2020). Phylogeny–based species delimitation and integrative taxonomic revision of the *Hyalinobatrachium fleischmanni* species complex, with resurrection of *H. viridissimum* (Taylor, 1942). *Systematics and Biodiversity*, 18(5), 464–484.
- Minh, B. Q., Nguyen, M. A. T., y von Haeseler A. (2013). Ultrafast approximation for phylogenetic bootstrap. *Mol. Biol. Evol.*, 30, 1188–1195.

- Morais, A. R., Batista, V. G., Gambale, P. G., Signorelli, L., y Bastos, R. P. (2012). Acoustic communication in a Neotropical frog (*Dendropsophus minutus*): vocal repertoire, variability and individual discrimination. *HERPETOLOGICAL JOURNAL*, 22, 249–257.
- Nali, R. C., y Prado, C. P. (2014). Complex Call with Different Messages in *Bokermannohyla ibitiguara* (Anura, Hylidae), a Gladiator Frog of the Brazilian Cerrado. *Journal of Herpetology*, 48 (3), 407–414.
- Nguyen, L. T., Schmidt, H. A., von Haeseler, A., y Minh, B. Q. (2015). IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum likelihood phylogenies. *Mol. Biol. Evol.*, 32, 268–274.
- Oliveira, E. A., y Hernández-Ruz, E. J. (2017). New species of glassfrog, genus *Hyalinobatrachium* (Anura: Centrolenidae), for the Brazilian Amazon revealed by mitochondrial DNA and morphology. *Int. J. Res. Stud. Biosci*, 5(3), 41–52.
- Osorio-Dominguez, D., y Quintero-Angel, A. (2012). *Espadarana prosoblepon* Boettger, 1892 (Amphibia: Anura): distribution extension on the western slopes of the Cordillera Central, Colombia. *Check List*, 8(5), 898–899.
- Padial, J. M. y De la Riva, I. (2009). Integrative taxonomy reveals cryptic Amazonian species of *Pristimantis* (Anura). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 155, 97–122.
- Padial, J., Miralles, A., De la Riva, I., y Vences, M. (2010). The integrative future of taxonomy. *Front Zool.*, 7, 16.
- Pimm, S. L., y Raven, P. (2000). Extinction by numbers. *Nature*, 403 (6772), 843–845.
- Pinto-Sánchez, N., Ibáñez, R., Madriñán, S., Sanjur, O., Bermingham, E., y Crawford, A. (2012). The Great American Biotic Interchange in frogs: Multiple and early colonization of Central America by the South American genus *Pristimantis* (Anura: Craugastoridae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62, 954–972.

- Rada, M., y Guayasamin, J. (2008). Redescripción de *Cochranella megista* (Rivero, 1985) y ampliación de la distribución de nueve ranas de cristal (Anura: Centrolenidae) en Colombia. *Papéis Avulsos de Zoología*, 48, 89–101.
- Rivera–Correa, M., Correa–Medina, H., Venegas–Valencia, K., y Daza, J. M. (Sometido). Genetic diversity, acoustic signal and geographic distribution of a colourful rain frog of the genus *Pristimantis*. *Amphibia–Reptilia*.
- Rivero, J. A. (1968). Los centrolénidos de Venezuela. *Memoria de la Sociedad de Ciencias Naturales La Salle*, 28 (81), 301–334.
- Rojas–Runjaic, F., Infante–Rivero, E., y Cabello, P. (2012). New records and distribution extensions of centrolenid frogs for Venezuela. *Check List. A Journal of Species Lists and Distribution*, 8, 819–825.
- Royston, P. (1995). A remark on algorithm AS 181: the W–test for normality. (Remark AS R94). *JR Stat Soc Ser C Appl Stat*, 44 (4), 547–551.
- Ruiz–Carranza, P., y Lynch, J. (1991). Ranas Centrolenidae de Colombia I. Propuesta de una nueva clasificación generica. *Lozania*, 57, 1–30.
- Ruiz–Carranza, P., y Lynch, J. (1995). Ranas Centrolenidae de Colombia VII. Redescripción de *Centrolene andinum* (Rivero 1968). *Lozania*, 64, 1–12.
- Santos, N., Volotao, E., Soares, C., Albuquerque, M., Da silva, F., Chizhikov, V., y Hoshino, Y. (2003). Vp7 gene polymorphism of serotype G9 rotavirus strain and its impact on G genotype determination by PCR. *Virus Res.*, 93, 127–138.
- Schlick–Steiner, B., Steiner, F., Seifert, B., Stauffer, C., Christian, E., y Crozier, R. (2010). Integrative taxonomy: a multisource approach to exploring Biodiversity. *Annu Rev Entomol.*, 55, 421–438.
- Señaris, J. C., y Ayarzagüena, J. (2005). Revisión taxonómica de la familia Centrolenidae (Amphibia; Anura) de Venezuela. Comité español del programa MAB de la UNESCO.

- Sueur, J., Aubin, T., y Simonis, C. (2008). Seewave, a free modular tool for sound analysis and synthesis. *Bioacoustics*, 18 (2), 213–226.
- Thomas, J., Telfer, M., Roy, D., Preston, C., Greenwood, J., Asher, J., Fox, R., Clarke, R., y Lawton, J. (2004). Comparative losses of British butterflies, birds, and plants and the global extinction crisis. *Science*, 303, 1879–1881.
- Trifinopoulos, J., Nguyen, L. T., von Haeseler, A., y Minh, B. Q. (2016). W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nucleic acids research*, 44(1), 232–235.
- Turin, R. A., Nali, R. C., y Prado, C. P. (2018). Intraspecific call variation in a Neotropical gladiator frog with a complex advertisement call. *Amphibia-Reptilia*, 39 (1), 31–39.
- Twomey, E., Delia, J., y Castroviejo-Fisher, S. (2014). A review of Northern Peruvian glassfrogs (Centrolenidae), with the description of four new remarkable species. *Zootaxa*, 3851, 1–87.
- Valdecasas, A., Williams, D., y Wheeler, Q. (2007). ‘Integrative taxonomy’ then and now: a response to Dayrat (2005). *Biological Journal of the Linnean Society*, 93, 211–216.
- Vélez, A., y Guajardo, A. S. (2020). Individual variation in two types of advertisement calls of Pacific tree frogs, *Hyllola* (= *Pseudacris*) *regilla*, and the implications for sexual selection and species recognition. *Bioacoustics*, 1–21.
- Vences, M., y Wake, D. (2007). Speciation, species boundaries and phylogeography of amphibians. In H. Heatwole (Ed.) *Amphibian Biology* (Vol. 7, pp. 2613–2671). Chipping Norton: Surrey Beatty and Sons.
- Vieites, D. R., Wollenberg, K. C., Andreone, F., Köhler, J., Glaw, F., y Vences, M. (2009). Vast underestimation of Madagascar's biodiversity evidenced by an integrative amphibian inventory. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106 (20), 8267–8272.
- Wells, K. D. (2007) The ecology and behaviour of amphibians. University of Chicago, Chicago and London.

- Wiley, E. (1978). The Evolutionary Species Concept Reconsidered. *Systematic Zoology*, 27, 17–26.
- Wiley, E., y Mayden, R. (2000). The evolutionary species concept. In: Species Concepts and Phylogenetic Systematics. A Debate (Q. D. Wheeler and R. Meier, (Eds.)). *Columbia University Press*, 70–89.
- Will, K., Mishler, B., y Wheeler, Q. (2005). The perils of DNA barcoding and the need for integrative taxonomy. *Syst. Biol.*, 54, 844–851.
- Winston, J. (1999). Describing Species: Practical Taxonomic Procedure for Biologists. New York. Columbia University Press.
- Yodthong, S., Rujirawan, A., Stuart, B. L., y Aowphol, A. (2021). A New *Limnonectes* (Anura: Dicroglossidae) from Southern Thailand. *Animals*, 11 (2), 566.
- Zeng, Z., Liang, D., Li, J., Lyu, Z., Wang, Y., y Zhang, P. (2020). Phylogenetic relationships of the Chinese torrent frogs (Ranidae: Amolops) revealed by phylogenomic analyses of AFLP–Capture data. *Molecular phylogenetics and evolution*, 146, 106753.

TABLAS

Tabla 1. Localidades, coordenadas y elevaciones de los 23 machos de *Espadarana andina*, *E. “central”* y *E. prosoblepon* grabados para los análisis acústicos. Los valores de *n* representan el número de machos grabados. Todas las localidades se encuentran en Colombia.

<i>n</i>	<i>Espadarana</i>	Departamento	Municipio	Localidad	Coordenadas	Elevación (m.s.n.m)
9	<i>andina</i>	Santander	Floridablanca	Vereda Agua Blanca, cuenca Río Frio	7.1166, -73.0333	1728
10	“central”	Antioquia	Valdivia	Reserva La Selva	7.094574, -75.484276	1745
4	<i>prosoblepon</i>	Antioquia	Yarumal	Reserva el reposo, finca La Honda	7.0614667, -75.40415	1650

Tabla 2. Estadística descriptiva para los parámetros acústicos de las entidades evaluadas. Vouchers de los cantos: *Espadarana andina* (MRC 761, MRC 762), *Espadarana “central”* (MRC 1523, MRC 1524, MRC 1850) y *Espadarana prosoblepon* (MRC 1891, MRC 1892, MRC 1899, MRC 1900). Los valores de *n* indican el número de cantos analizados. Los valores son representados como media ± desviación estándar seguido del rango en paréntesis. También se incluyen valores del ANOVA ($p < 0.05$).

Propiedades acústicas	Espadarana			ANOVA	
	andina (n=146)	"central" (n=174)	prosolepon (n=44)	Valor F	Valor-p
Temperatura (°C)	20,9 ± 2,5 (18,2 – 23,0)	19,1 ± 0,6 (18,3 – 20,0)	19,8 ± 1,5 (18,0 – 21,0)	-	-
Duración canto (s)	0,044 ± 0,007 (0,033-0,051)	0,068 ± 0,009 (0,054-0,080)	0,218 ± 0,011 (0,207-0,231)	603,3	<2e-16
Frecuencia dominante (kHz)	5,062 ± 0,186 (4,815-5,378)	4,899 ± 0,169 (4,597-5,070)	5,236 ± 0,144 (5,106-5,366)	5,837	0,0101
Frecuencia mínima (kHz)	4,824 ± 0,160 (4,547-5,102)	4,656 ± 0,168 (4,414-4,840)	5,023 ± 0,131 (4,898-5,146)	7,959	0,00287
Frecuencia máxima (kHz)	5,280 ± 0,0267 (4,898-5,695)	5,137 ± 0,172 (4,813-5,311)	5,555 ± 0,083 (5,446-5,632)	5,864	0,0099
Ancho banda (kHz)	0,456 ± 0,184 (0,195-0,687)	0,481 ± 0,047 (0,0398-0,547)	0,533 ± 0,064 (0,480-0,617)	0,54	0,591
Pulsos por canto	7 ± 1,808 (5-11)	8 ± 2,039 (5-11)	13 ± 1,107 (12-15)	16,14	6,70E-05

Tabla 3. Cargas numéricas, valores propios y porcentaje de varianza explicada para las Componentes Principales (CP) I – II – III – IV. El análisis se basó en seis variables acústicas de los cantos de anuncio de *Espadarana andina*, *E. "central"* y *E. prosolepon*.

Parámetros acústicos	Componentes principales			
	CP1	CP2	CP3	CP4
Duración del canto (s)	0,364	0,546	0,194	0,697
Frecuencia dominante (kHz)	0,497	-0,224	-0,250	-0,248
Frecuencia mínima (kHz)	0,483	-0,133	-0,420	0,109
Frecuencia máxima (kHz)	0,509	-0,263	0,063	0,040
Ancho de Banda (90%) (kHz)	0,234	-0,318	0,843	-0,106
Numero de pulsos por canto	0,273	0,680	0,098	-0,654
Eigenvalue	3,463	1,429	0,934	0,165
Desviación estándar	1,861	1,195	0,966	0,406
Proporción de variación (%)	57,72	23,82	15,57	2,75
Proporción acumulada (%)	57,72	81,54	97,11	99,87

Tabla 4. Estadística descriptiva de las variables morfométricas de *Espadarana andina*, *E. "central"* y *E. prosolepon*. Los valores de *n* indican el número de individuos medidos. Los valores son representados como media ± desviación estándar seguido del rango (mínimo - máximo). También se incluyen valores del ANOVA ($p < 0.05$) calculados solo incluyendo machos. Todas las medidas están expresadas en milímetros (mm).

Propiedades morfométricas	Espadarana						ANOVA	
	andina (n= 23)		"central" (n= 45)		prosolepon (n= 30)		Valor F	Valor-p
	Machos (n= 15)	Hembras (n= 8)	Machos (n= 41)	Hembras (n= 4)	Machos (n= 24)	Hembras (n= 6)		
Longitud rostro-cloaca (mm)	24,972 ± 1,303 (23,403 - 27,833)	26,687 ± 2,152 (23,200 - 29,320)	22,763 ± 1,406 (20,947 - 25,937)	23,683 ± 1,322 (22,060 - 25,257)	26,263 ± 1,483 (23,500 - 28,683)	27,182 ± 1,596 (25,003 - 29,183)	49,31	1,64e-14
Longitud cabeza (mm)	8,152 ± 0,457 (7,033 - 8,840)	8,350 ± 0,548 (7,850 - 9,190)	7,611 ± 0,470 (6,533 - 9,050)	8,201 ± 0,357 (7,800 - 8,543)	8,622 ± 0,419 (7,770 - 9,347)	8,549 ± 0,278 (8,090 - 8,770)	38,62	2,42e-12
Ancho cabeza (mm)	8,712 ± 0,468 (8,083 - 9,640)	9,150 ± 0,704 (7,913 - 9,887)	7,909 ± 0,427 (7,327 - 8,807)	8,357 ± 0,373 (7,817 - 8,627)	8,978 ± 0,438 (7,943 - 9,853)	9,387 ± 0,331 (9,003 - 9,703)	50,20	1,11e-14
Longitud tibia (mm)	14,263 ± 0,521 (13,647 - 15,397)	15,146 ± 0,620 (13,890 - 15,823)	13,071 ± 0,833 (11,997 - 14,730)	13,564 ± 0,571 (12,940 - 14,320)	15,115 ± 0,659 (13,863 - 16,477)	15,998 ± 0,783 (14,750 - 16,750)	60,66	<2e-16
Longitud muslo (mm)	13,583 ± 0,685 (11,660 - 14,430)	14,195 ± 0,475 (13,667 - 15,200)	13,335 ± 0,924 (11,260 - 15,297)	13,860 ± 0,677 (13,043 - 14,320)	14,963 ± 0,741 (14,047 - 16,817)	14,654 ± 0,752 (13,350 - 15,650)	30,03	2,29e-10
Longitud pie (mm)	10,707 ± 0,770 (9,840 - 12,513)	11,531 ± 0,837 (10,510 - 12,633)	10,067 ± 0,644 (9,150 - 11,460)	10,573 ± 0,582 (9,910 - 11,323)	11,526 ± 0,706 (9,993 - 12,677)	11,719 ± 0,553 (11,030 - 12,473)	34,27	2,26e-11
Diámetro ojo (mm)	3,443 ± 0,170 (3,187 - 3,803)	3,538 ± 0,231 (3,140 - 3,803)	3,000 ± 0,227 (2,500 - 3,520)	3,088 ± 0,094 (3,007 - 3,223)	3,466 ± 0,188 (2,980 - 3,703)	3,457 ± 0,151 (3,240 - 3,677)	49,64	1,42e-14
Distancia ojo-narina (mm)	2,262 ± 0,185 (1,833 - 2,610)	2,492 ± 0,182 (2,140 - 2,687)	2,053 ± 0,148 (1,770 - 2,320)	2,268 ± 0,276 (1,897 - 2,503)	2,337 ± 0,169 (2,087 - 2,697)	2,447 ± 0,124 (2,263 - 2,590)	25,89	2,52e-9
Distancia internarinal (mm)	2,114 ± 0,209 (1,863 - 2,603)	2,333 ± 0,185 (2,083 - 2,570)	2,004 ± 0,128 (1,733 - 2,327)	2,145 ± 0,052 (2,103 - 2,220)	2,176 ± 0,159 (1,843 - 2,470)	2,275 ± 0,249 (2,047 - 2,697)	9,73	1,71e-4
Distancia interorbital (mm)	4,147 ± 0,282 (3,603 - 4,683)	4,245 ± 0,419 (3,650 - 4,780)	3,603 ± 0,637 (2,377 - 4,403)	4,179 ± 0,131 (3,983 - 4,260)	4,267 ± 0,500 (2,863 - 4,800)	3,803 ± 0,625 (3,107 - 4,633)	12,93	1,44e-5
Diámetro disco III dedo (mm)	1,357 ± 0,262 (1,067 - 1,857)	1,424 ± 0,273 (0,987 - 1,843)	1,259 ± 0,132 (1,010 - 1,573)	1,243 ± 0,131 (1,087 - 1,407)	1,525 ± 0,276 (1,067 - 2,213)	1,393 ± 0,137 (1,220 - 1,570)	12,13	2,63e-5

Tabla 5. Cargas numéricas, valores propios y porcentaje de varianza explicada para las Componentes Principales (CP) I – II – III – IV – V. El análisis se basó en las 11 variables morfométricas de los machos adultos de *Espadarana andina*, *E. "central"* y *E. prosolepon*.

Parámetros morfométricos	Componentes principales				
	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5
Longitud rostro-cloaca	-0,343	0,155	-0,199	0,069	-0,015
Longitud cabeza	-0,322	-0,104	-0,331	-0,033	-0,006
Ancho cabeza	-0,345	0,078	-0,138	-0,138	-0,138
Longitud tibia	-0,349	-0,087	-0,126	0,225	0,040
Longitud muslo	-0,302	-0,202	-0,015	0,540	0,374
Longitud pie	-0,337	-0,069	0,071	0,142	0,256
Diámetro ojo	-0,285	-0,096	-0,404	-0,586	-0,085
Distancia ojo-narina	-0,275	0,218	0,144	0,233	-0,723
Distancia internarinal	-0,248	0,574	0,429	-0,018	0,025

Distancia interorbital	-0,200	-0,709	0,524	-0,135	-0,270
Diametro disco III dedo	-0,273	0,128	0,410	-0,444	0,413
Eigenvalue	7,305	0,860	0,724	0,598	0,505
Desviación estándar	2,703	0,928	0,851	0,773	0,711
Proporción de variación (%)	66,411	7,822	6,577	5,435	4,590
Proporción acumulada (%)	66,411	74,233	80,811	86,245	90,835

Tabla 6. Distancias genéticas con el modelo de *p-distance* sin corregir por pares. Para COI (superior) y para ARNr 16S (inferior). No aplica (NA).

	Especies	1	2	3	4	5	6
1	<i>Espadarana andina</i>	*	(8,0 - 9,49%)	(9,66 - 11,73%)	NA	NA	NA
2	<i>Espadarana "central"</i>	(2,18 - 4,04%)	*	(8,71 - 11,73%)	NA	NA	NA
3	<i>Espadarana prosoblepon</i>	(2,64 - 4,72%)	(1,81 - 4,96%)	*	NA	NA	NA
4	<i>Espadarana audax</i>	(3,99 - 6,07%)	(4,03 - 6,09%)	(3,63 - 5,86%)	*	NA	NA
5	<i>Espadarana durellorum</i>	(4,27 - 5,54%)	(4,79 - 5,67%)	(3,71 - 4,27%)	(1,64%)	*	NA
6	<i>Espadarana callistomma</i>	(3,64 - 5,11%)	(3,32 - 5,24%)	(1,49 - 2,43%)	(5,60 - 6,33%)	(5,30 - 5,42%)	*

FIGURAS

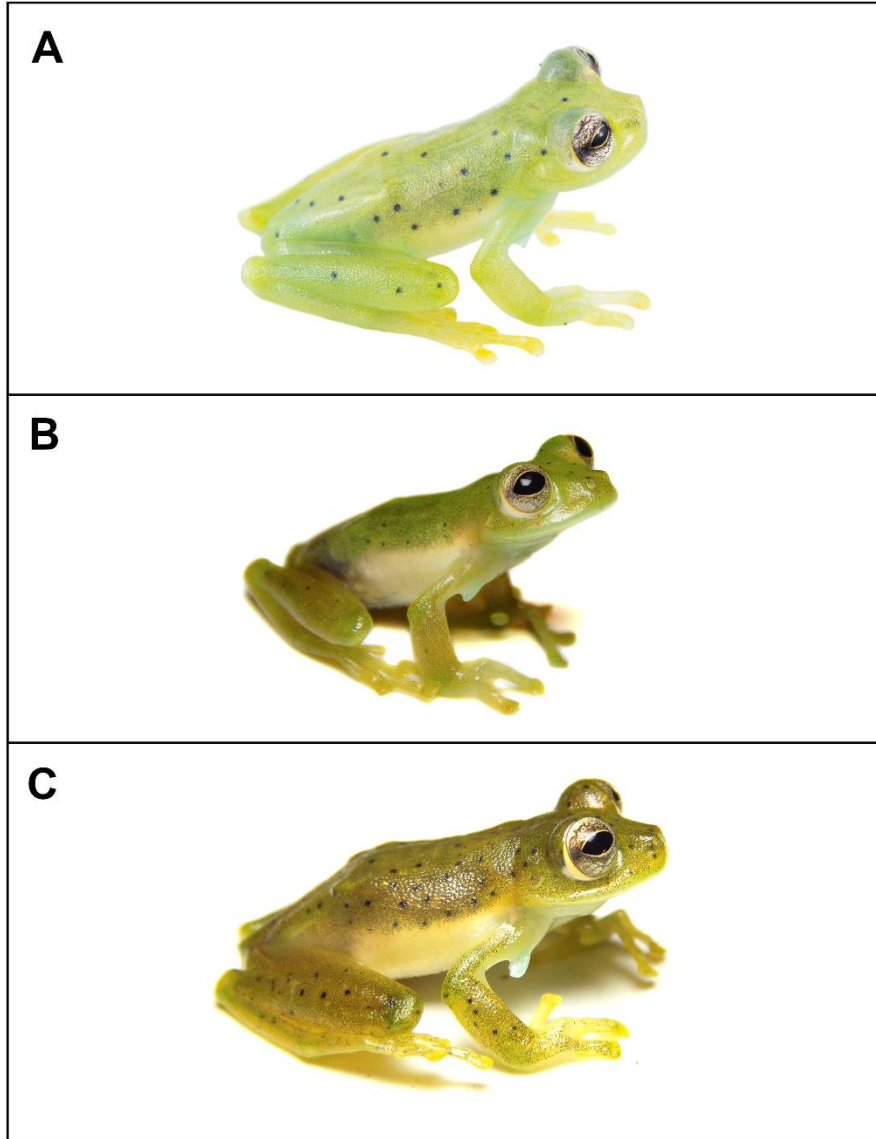


Figura 1. A) Macho adulto de *Espadarana andina* del municipio del Carmen de Chucurí, Santander, vereda la Bodega, quebrada La San Guillerma (UIS-A-6072; 1600 m.s.n.m.). B) Macho adulto de *Espadarana* “central” del municipio de Valdivia, Antioquia, vereda San Fermín, Reserva Natural La Selva (MRC 1850; LRC: 23,68mm; 1860 m.s.n.m.) C) Macho adulto de *Espadarana prosoblepon* del municipio de Yarumal, Antioquia, vereda El Rosario (MRC 1892; LRC: 25,66mm; 1700 m.s.n.m.). Fotografía *Espadarana andina*: Elson Meneses-Pelayo; Fotografías *Espadarana* “central” y *Espadarana prosoblepon*: Khristian Venegas-Valencia.

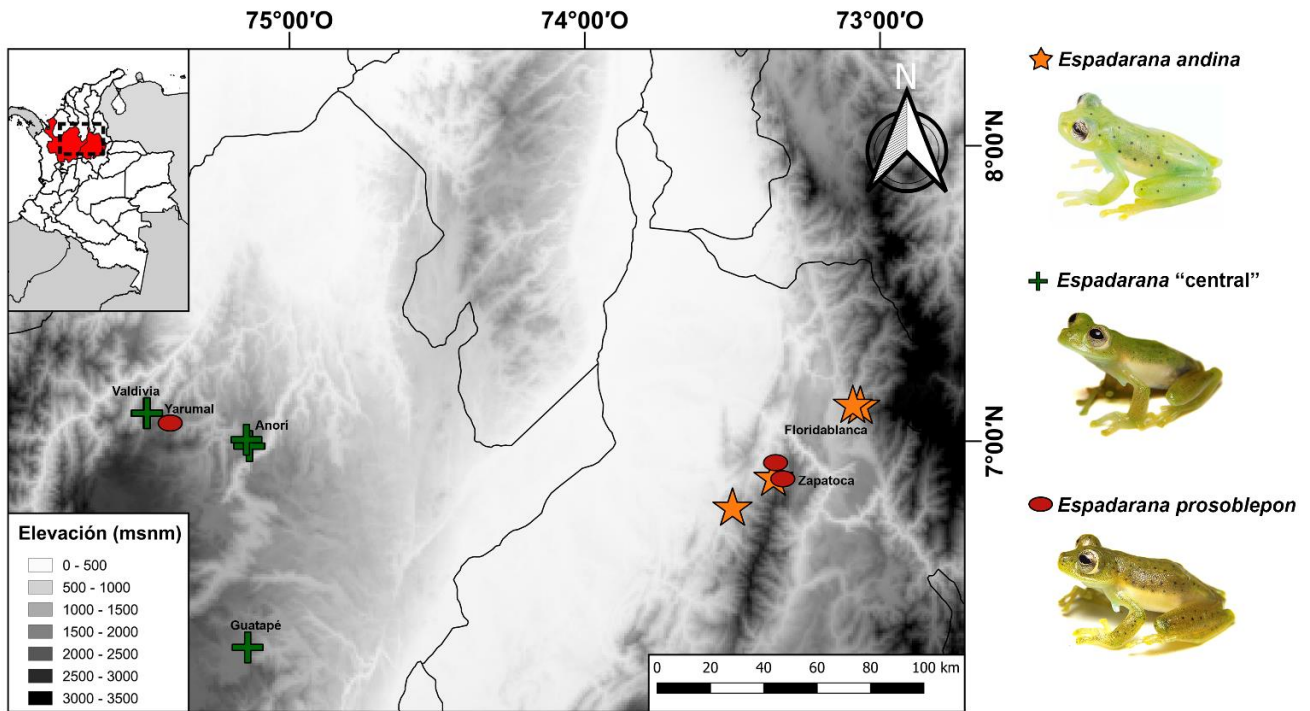


Figura 2. Distribución geográfica de las localidades de *Espadarana andina*, *E. "central"* y *E. prosoblepon* usadas para los análisis acústicos y morfométricos. Los registros están basados en ejemplares almacenados en el Museo de Herpetología Universidad de Antioquia (MHUA) y en la colección herpetológica de la Universidad Industrial de Santander (UIS). Fotografía *Espadarana andina*: Elson Meneses-Pelayo; Fotografías *Espadarana "central"* y *Espadarana prosoblepon*: Khristian Venegas-Valencia.

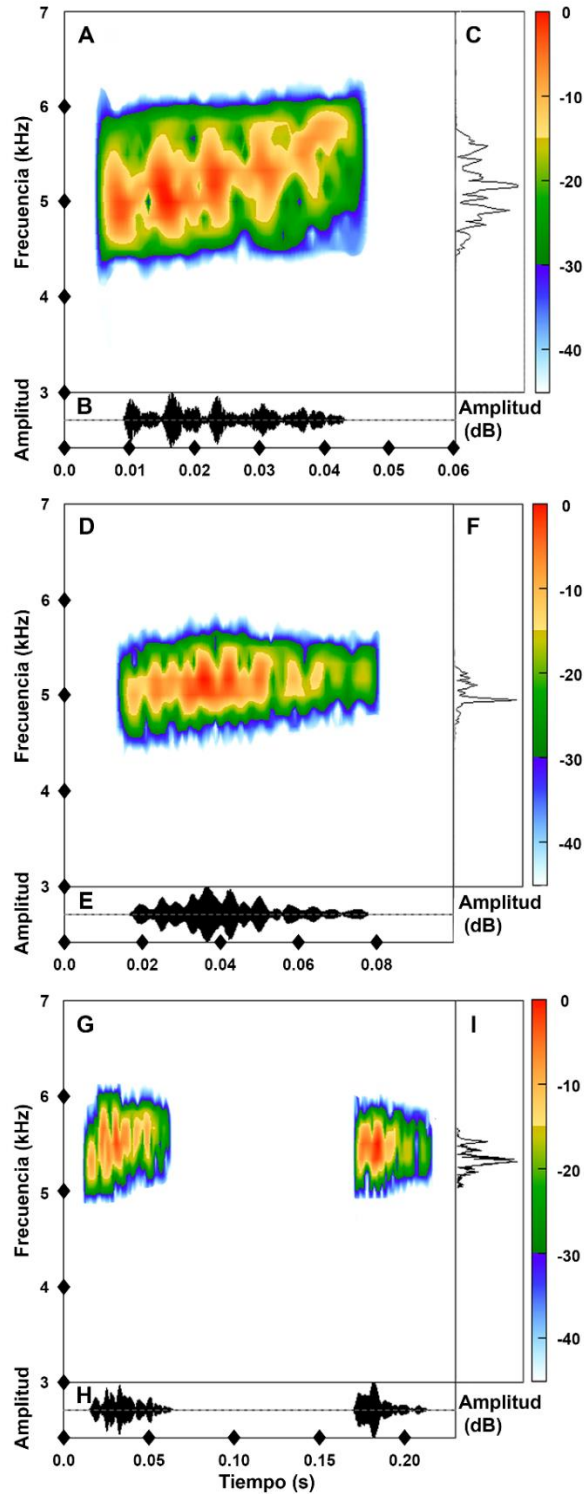


Figura 3. Canto de anuncio de las especies evaluadas. (A, B, C) *Espadarana andina* (MRC 761, Santander, Florida Blanca) (D, E, F) *Espadarana* “central” (MRC 1850, Antioquia, Valdivia, Reserva La Selva, LRC = 23,68 mm) (G, H, I) *Espadarana prosoblepon* (MRC 1891, Antioquia, Yarumal, Reserva Natural Los Magnolios, LRC = 27,59 mm). (A, D, G) Espectrograma. (B, E, H) Oscilograma. (C, F, I) Espectro de poder.

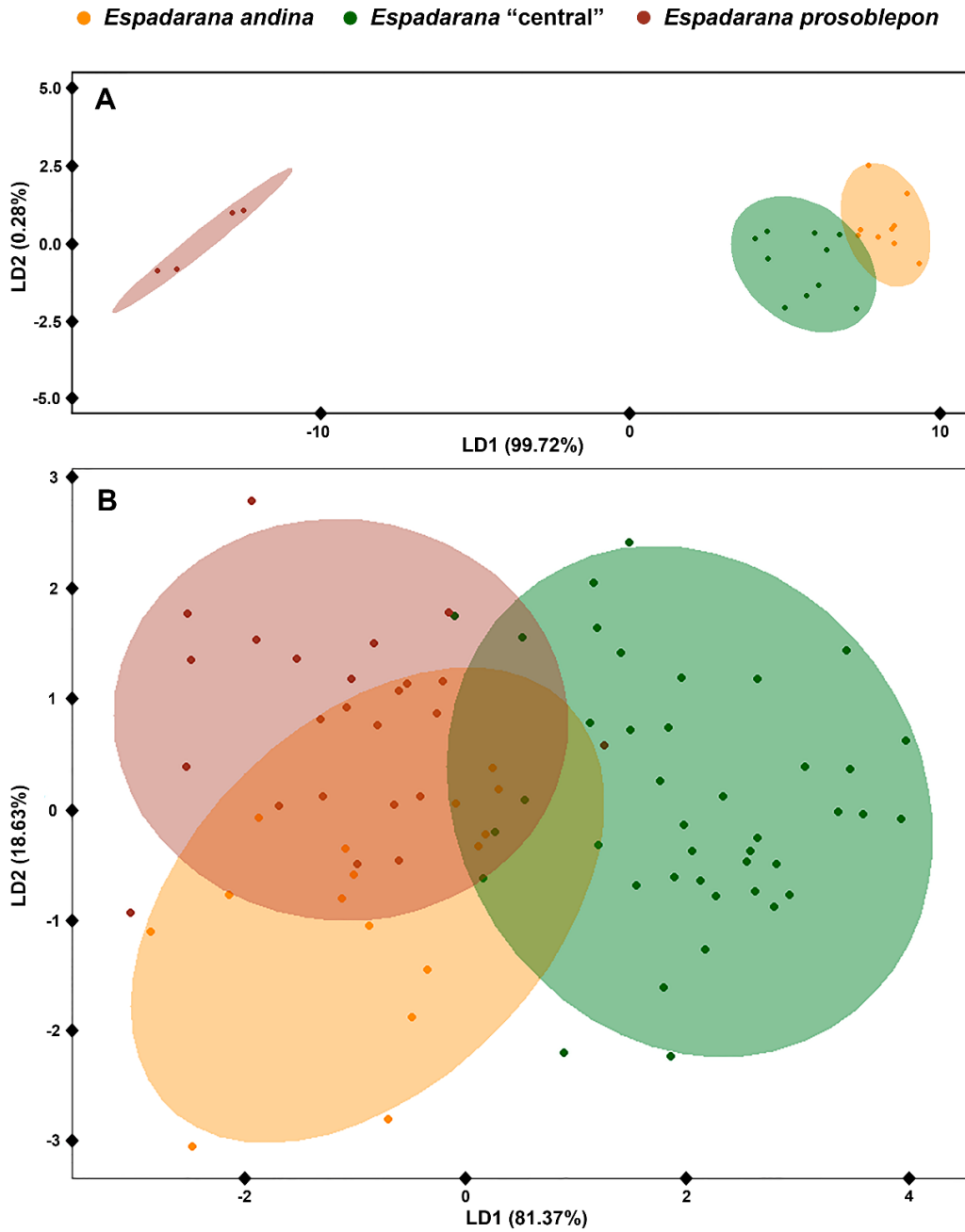


Figura 4. Análisis de Función discriminante. (A) Parámetros acústicos, se observa una separación en tres grupos, los cuales corresponden a las entidades evaluadas. Las elipses dan el 100% de confianza para el agrupamiento. (B) Parámetros morfométricos, también se observa una separación en tres grupos. Las elipses dan el 85,19% de confianza para el agrupamiento.

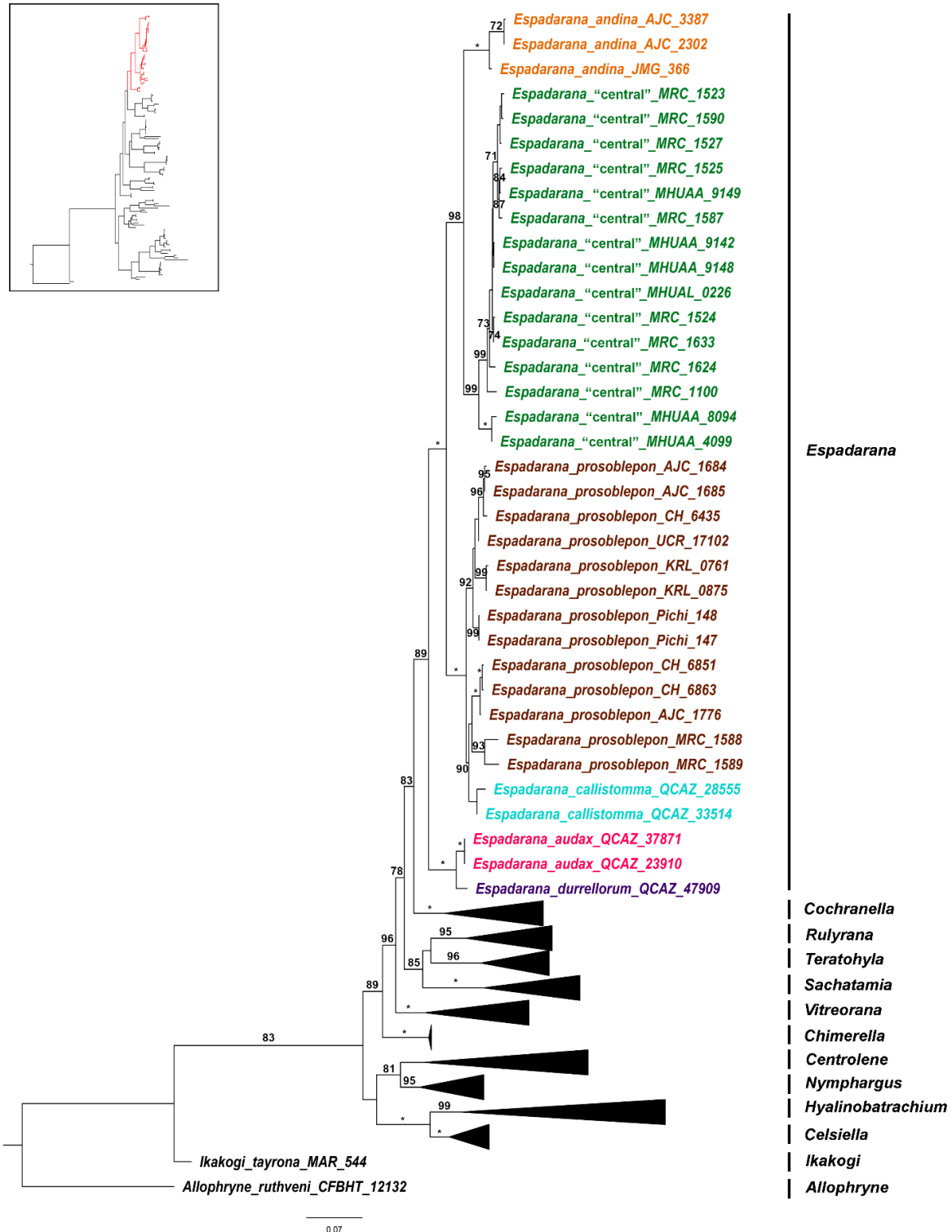


Figura 5. Árbol de máxima verosimilitud ($\ln L = -13183,235$) que representa las relaciones evolutivas dentro de la familia Centrolenidae inferidas a partir de un análisis utilizando 1565 sitios, dos regiones genómicas (COI y ARNr 16S) y 125 terminales. Se realiza un énfasis especial en el género *Espadarana*, con el fin de ver mejor las relaciones al interior de este. Los soportes <70 no fueron incluidos. El * representa valores iguales al 100. Los números de acceso de GenBank y los datos de localidad para las terminales empleadas en este análisis se proporcionan en la Tabla S2.

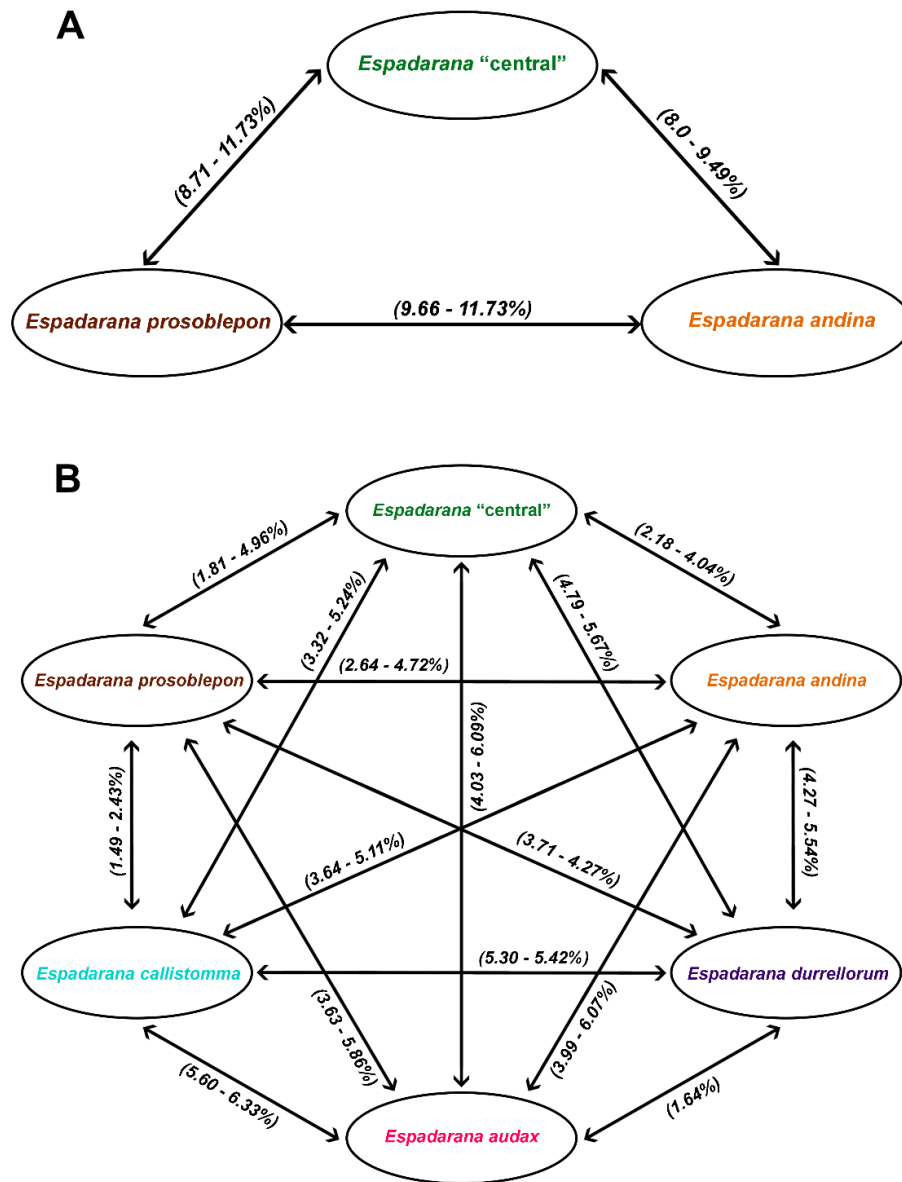


Figura 6. Representación gráfica de las distancias genéticas calculadas con el modelo de *p-distance* sin corregir por pares. (A) Para COI se incluyeron 77 secuencias nucleotídicas y hubo 672 sitios alineados. (B) Para ARNr 16S se incluyeron 112 secuencias nucleotídicas y hubo 893 sitios alineados. Las distancias genéticas están dadas en porcentajes.

ANEXOS

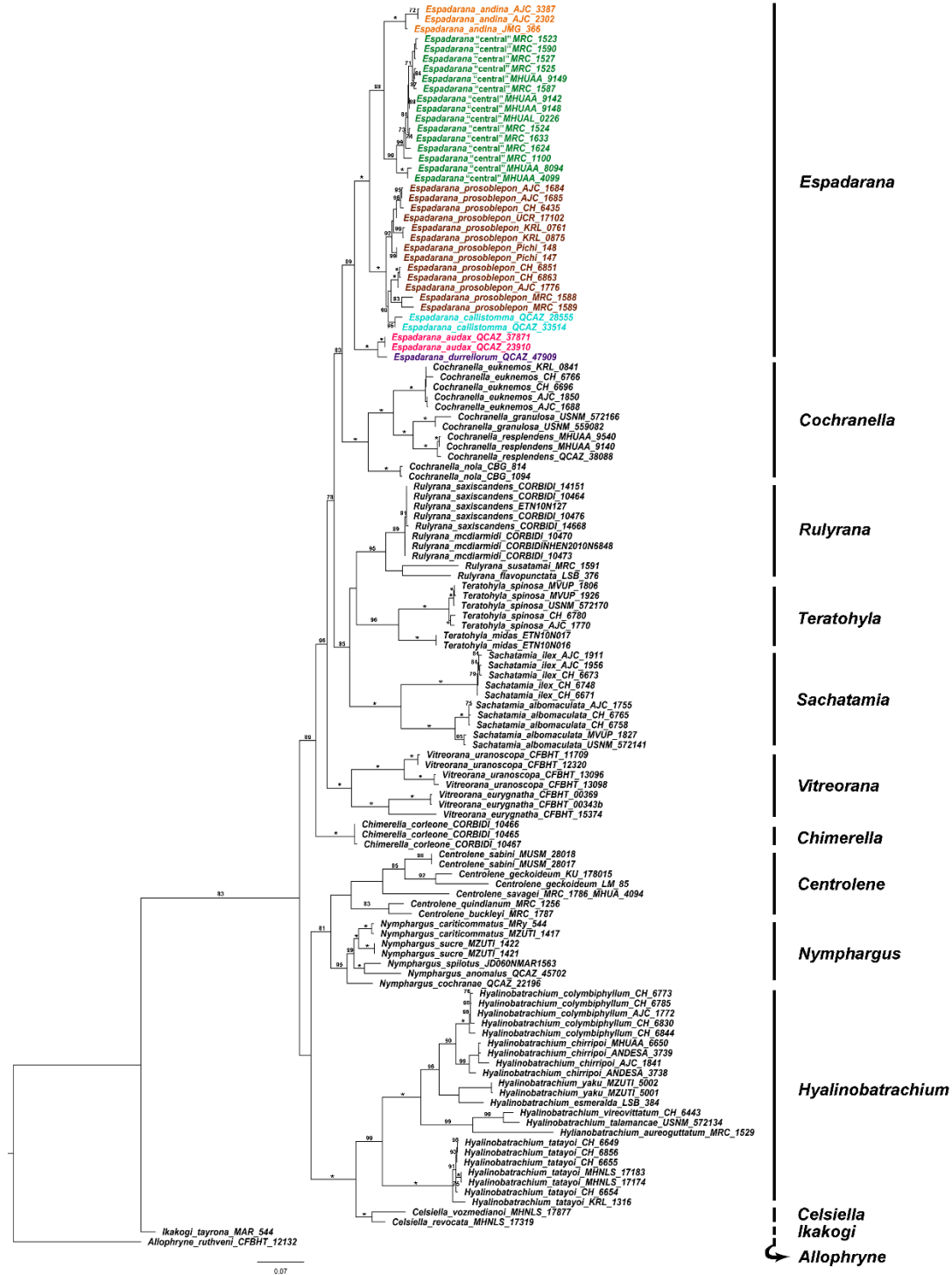


Figura S1. Árbol de máxima verosimilitud (InL = -13183,235) que representa las relaciones evolutivas dentro de la familia Centrolenidae inferidas a partir de un análisis utilizando 1565 sitios, dos regiones genómicas (COI y ARNr 16S) y 125 terminales. Los soportes <70 no fueron incluidos. El * representa valores iguales al 100. Los números de acceso de GenBank y los datos de localidad para las terminales empleadas en este análisis se proporcionan en la Tabla S2.

Tabla S1. Cantos totales analizados por individuos con variables espectrales y temporales. Promedios, desviaciones estándar, mínimo y máximo para cada uno de los individuos de *Espadarana andina*, *Espadarana* “central” y *Espadarana prosoblepon*. *n* corresponde al número de cantos analizados para cada uno de los machos. Los vouchers A4, E1, F4 y G4 son audios provenientes del trabajo de Cabanzo-Olarte y Ortega (2017). NC corresponde a los datos no calculados.

<i>Espadarana</i>	Voucher	<i>n</i>	Temperatura (°C)	Duración Canto (s)	Frecuencia dominante (kHz)	Frecuencia mínima (kHz)	Frecuencia máxima (kHz)	Ancho banda (kHz)	Pulsos por canto	Intervalo (s)
<i>andina</i>	MRC 761	41	18,2	0,036 ± 0,003 (0,028-0,043)	5,076 ± 0,148 (4,823-5,405)	4,788 ± 0,080 (4,630-4,974)	5,472 ± 0,096 (5,319-5,749)	0,684 ± 0,119 (0,409-1,098)	5 ± 0,838 (4-7)	11,138 ± 2,374 (7,067-15,798)
<i>andina</i>	MRC 762	14	18,2	0,036 ± 0,005 (0,028-0,047)	5,143 ± 0,193 (4,694-5,448)	4,865 ± 0,144 (4,479-4,996)	5,494 ± 0,155 (5,211-5,727)	0,629 ± 0,118 (0,495-0,926)	5 ± 0,725 (4-6)	10,200 ± 3,510 (4,403-13,442)
<i>andina</i>	A4	4	23	0,046 ± 0,005 (0,042-0,053)	5,269 ± 0,054 (5,203-5,320)	5,102 ± 0,043 (5,055-5,156)	5,373 ± 0,048 (5,328-5,422)	0,271 ± 0,032 (0,242-0,313)	7 ± 0,957 (6-8)	37,757 ± 7,325 (29,949-44,478)
<i>andina</i>	E1	1	23	0,047 ± 0,0	4,828 ± 0,0	4,547 ± 0,0	4,898 ± 0,0	0,352 ± 0,0	11 ± 0,0	NC
<i>andina</i>	F4	3	23	0,049 ± 0,008 (0,041-0,056)	4,815 ± 0,066 (4,766-4,891)	4,729 ± 0,063 (4,672-4,797)	4,925 ± 0,052 (4,868-4,969)	0,195 ± 0,062 (0,148-0,266)	8 ± 1,155 (7-9)	67,909 ± 56,311 (24,951-131,659)
<i>andina</i>	G4	4	23	0,045 ± 0,009 (0,032-0,052)	4,967 ± 0,084 (4,883-5,047)	4,773 ± 0,174 (4,570-4,930)	5,092 ± 0,099 (4,984-5,188)	0,318 ± 0,078 (0,234-0,414)	6 ± 1,291 (4-7)	66,270 ± 50,259 (15,039-115,496)
<i>andina</i>	Elson_Inv1	24	-	0,051 ± 0,012 (0,029-0,080)	5,053 ± 0,216 (4,608-5,319)	4,788 ± 0,210 (4,414-5,168)	5,297 ± 0,208 (4,953-5,599)	0,509 ± 0,091 (0,345-0,711)	7 ± 1,792 (5-12)	3,008 ± 2,863 (0,648-9,769)
<i>andina</i>	Elson_Inv2	10	-	0,049 ± 0,010 (0,035-0,068)	5,030 ± 0,164 (4,845-5,362)	4,819 ± 0,171 (4,673-5,168)	5,278 ± 0,174 (5,082-5,663)	0,459 ± 0,036 (0,409-0,517)	7 ± 1,567 (4-9)	3,701 ± 3,747 (0,813-7,935)
<i>andina</i>	NV_8	45	18,2	0,033 ± 0,007 (0,021-0,052)	5,378 ± 0,283 (4,845-6,546)	5,008 ± 0,290 (4,479-6,202)	5,695 ± 0,332 (5,383-6,912)	0,687 ± 0,366 (0,409-2,433)	6 ± 1,230 (3-10)	8,401 ± 4,791 (0,829-25,111)
"central"	MRC 1523	43	18,3	0,070 ± 0,011 (0,045-0,105)	4,773 ± 0,143 (4,479-5,082)	4,496 ± 0,147 (4,242-4,802)	5,027 ± 0,122 (4,780-5,319)	0,532 ± 0,064 (0,431-0,732)	8 ± 2,338 (3-14)	3,516 ± 3,228 (0,410-11,610)
"central"	MRC 1524	26	18,4	0,075 ± 0,013 (0,056-0,123)	4,715 ± 0,210 (4,113-4,953)	4,457 ± 0,165 (3,962-4,630)	5,005 ± 0,199 (4,285-5,211)	0,547 ± 0,074 (0,323-0,668)	8 ± 2,914 (2-13)	3,170 ± 2,693 (0,529-9,293)
"central"	MRC 1850	14	19,6	0,054 ± 0,010 (0,039-0,072)	5,056 ± 0,156 (4,737-5,275)	4,811 ± 0,196 (4,328-5,082)	5,311 ± 0,174 (4,909-5,577)	0,500 ± 0,106 (0,366-0,710)	5 ± 1,406 (2-7)	12,905 ± 12,582 (1,347-34,60)
"central"	NV_1	12	19,3	0,074 ± 0,017 (0,044-0,099)	5,048 ± 0,215 (4,500-5,297)	4,840 ± 0,227 (4,328-5,081)	5,258 ± 0,226 (4,651-5,491)	0,418 ± 0,075 (0,322-0,624)	6 ± 2,103 (3-9)	5,342 ± 4,199 (1,309-12,560)
"central"	NV_2	26	19,6	0,059 ± 0,014 (0,032-0,084)	4,955 ± 0,160 (4,715-5,254)	4,733 ± 0,151 (4,500-4,995)	5,216 ± 0,179 (4,974-5,620)	0,483 ± 0,095 (0,334-0,775)	7 ± 1,941 (5-12)	7,311 ± 6,403 (1,015-27,113)

"central"	<i>NV_3</i>	7	20	0,078 ± 0,019 (0,051-0,096)	4,931 ± 0,074 (4,780-4,995)	4,688 ± 0,095 (4,521-4,780)	5,146 ± 0,092 (4,974-5,254)	0,458 ± 0,044 (0,366-0,495)	9 ± 2,360 (6-11)	9,905 ± 4,389 (4,985-13,417)
"central"	<i>NV_4</i>	29	18,5	0,062 ± 0,015 (0,033-0,095)	5,059 ± 0,122 (4,780-5,232)	4,817 ± 0,129 (4,586-5,038)	5,305 ± 0,119 (5,017-5,426)	0,489 ± 0,044 (0,344-0,710)	8 ± 2,360 (3-13)	6,052 ± 4,486 (0,513-15,470)
"central"	<i>NV_5</i>	2	19	0,057 ± 0,013 (0,047-0,066)	4,597 ± 0,015 (4,586-4,608)	4,414 ± 0,031 (4,392-4,435)	4,813 ± 0,015 (4,801-4,823)	0,398 ± 0,046 (0,366-0,430)	5 ± 0,707 (4-5)	34,235 ± 0,0
"central"	<i>NV_6</i>	9	-	0,080 ± 0,006 (0,071-0,089)	5,070 ± 0,086 (4,952-5,211)	4,795 ± 0,125 (4,543-4,952)	5,307 ± 0,087 (5,146-5,404)	0,512 ± 0,053 (0,452-0,602)	11 ± 2,915 (5-16)	1,192 ± 0,622 (0,450-2,203)
"central"	<i>NV_7</i>	6	-	0,070 ± 0,015 (0,050-0,092)	4,791 ± 0,088 (4,694-4,909)	4,511 ± 0,087 (4,392-4,586)	4,981 ± 0,099 (4,844-5,124)	0,470 ± 0,086 (0,366-0,581)	11 ± 5,354 (4-17)	1,083 ± 0,102 (0,932-1,153)
<i>prosolepon</i>	<i>MRC 1891</i>	7	21	0,212 ± 0,007 (0,202-0,221)	5,356 ± 0,112 (5,211-5,577)	5,125 ± 0,130 (5,017-5,383)	5,605 ± 0,141 (5,469-5,857)	0,479 ± 0,029 (0,452-0,538)	15 ± 1,718 (12-17)	NC
<i>prosolepon</i>	<i>MRC 1892</i>	14	21	0,207 ± 0,024 (0,183-0,252)	5,366 ± 0,215 (5,103-5,663)	5,146 ± 0,180 (4,866-5,383)	5,632 ± 0,283 (5,254-6,007)	0,486 ± 0,115 (0,344-0,710)	13 ± 4,487 (6-22)	NC
<i>prosolepon</i>	<i>MRC 1899</i>	14	18	0,223 ± 0,009 (0,212-0,237)	5,117 ± 0,173 (4,844-5,447)	4,922 ± 0,160 (4,694-5,124)	5,539 ± 0,235 (5,189-5,878)	0,617 ± 0,093 (0,473-0,796)	13 ± 2,901 (9-18)	NC
<i>prosolepon</i>	<i>MRC 1900</i>	9	19	0,231 ± 0,013 (0,187-0,238)	5,106 ± 0,174 (4,888-5,447)	4,898 ± 0,176 (4,694-5,275)	5,446 ± 0,246 (5,189-5,986)	0,548 ± 0,106 (0,409-0,796)	12 ± 3,647 (9-22)	NC

Tabla S2. Voucher, localidad, números de acceso de GenBank y genes muestreados para cada uno de los taxones incluidos en los análisis filogenéticos. Los vouchers en negrita son secuencias nuevas agregadas para este trabajo. MHUA: Museo de Herpetología Universidad de Antioquia, MRC: Investigador Mauricio Rivera-Correa.

Voucher	Especie	Localidad	Coordenadas	Elevación (m.s.n.m.)	GB Access COI	GB Access 16S
CFBHT 12132	<i>Allophryne ruthveni</i>	Brasil: Marabá - Pará	-5.406000, -49.189000	-	KU494330	KU495123
MHNLS 17319	<i>Celsiella revocata</i>	Venezuela: Estado Aragua: Colonia Tovar	10.4044444, -67.285	1800	-	EU663019
MHNLS 17877	<i>Celsiella vozmediano</i>	Venezuela: Estado Sucre: Península de Paria, Cerro Humo	10.7, -62.616666	800	-	EU663025
MRC 1787	<i>Centrolene buckleyi</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio El Carmen de Viboral: Verda La Madera, Finca El Ocaso, carretera al alto	6.023565, -75.324394	2671	-	-

KU 178015	<i>Centrolene geckoideum</i>	Ecuador: Provincia Pichincha: 1 km SW San Ignacio	-0.4486111, -78.74777	1920	-	EU662982
LM 85	<i>Centrolene geckoideum</i>	Ecuador	-	-	-	X86264.2
MRC 1256	<i>Centrolene quindianum</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio Santarosa de Osos: Vereda El Tronco, Reserva Guanacas	6.7004417, -75.359627	2300	-	-
MUSM 28018	<i>Centrolene sabini</i>	Perú	-13.1780556, -71.60861	2750	-	JX126960
MUSM 28017	<i>Centrolene sabini</i>	Perú	-13.1780556, -71.60861	2750	-	JX126961
MRC 1786	<i>Centrolene savagei</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio La Unión: Vereda La Cabaña, finca La Morena lote 2, quebrada La Playa	5.939415, -75.384293	2349	-	-
MHUA 4094	<i>Centrolene savagei</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio Anorí: Vereda El Retiro, Finca El Chaquiral	6.983333, -75.134722	1732	-	EU663020
CORBIDI 10465	<i>Chimerella corleone</i>	Peru: Departamento San Martin: San José, valle de Cainarachi	-6.4173861, -76.289258	610	-	KM068275
CORBIDI 10466	<i>Chimerella corleone</i>	Peru: Departamento San Martin: San José, valle de Cainarachi	-6.4173861, -76.289258	610	-	KM068276
CORBIDI 10467	<i>Chimerella corleone</i>	Peru: Departamento San Martin: San José, valle de Cainarachi	-6.4173861, -76.289258	610	-	KM068274
AJC 1688	<i>Cochranella euknemos</i>	Panamá: Darien: Distrito de Pinogana, Cana, Main Camp	7.756000, -77.684000	525	KR862882	KR863137
AJC 1850	<i>Cochranella euknemos</i>	Panamá: Darien: Distrito de Pinogana, Cana, Main Camp	7.756000, -77.684000	525	KR862880	KR863135
CH 6696	<i>Cochranella euknemos</i>	Panamá: Panamá: Distrito de Chepo: Corregimiento de Nargana, Refugio ANAM	9.320000, -79.289000	830	KR862886	KR863141
CH 6766	<i>Cochranella euknemos</i>	Panamá: Panamá: Distrito de Chilibre, Urbanizacion de los Altos de Cerro Azul	9.231000, -79.403000	800	KR862879	KR863134
KRL 0841	<i>Cochranella euknemos</i>	Panamá: Provincia de Coclé	8.670000, -80.590000	750	FJ766603	FJ784396
USNM 559082	<i>Cochranella granulosa</i>	Honduras: Departamento Gracias a Dios: Rus Rus	14.717703, -84.455338	60	-	EU663010
USNM 572166 / KRL 1011	<i>Cochranella granulosa</i>	Panamá: Provincia de Coclé: El Cope	8.670000, -80.592000	750	FJ766604	FJ784455
CBG 814	<i>Cochranella nola</i>	Bolivia: Departamento La Paz: Boquerón	15°3606300 S, 67°2006000 W	1000	-	EU663016

CBG 1094	<i>Cochranella nola</i>	Bolivia: Departamento Cochabamba: Villa Fatima	-	700	-	EU663015
MHUA9140	<i>Cochranella resplendens</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio Anorí: Vereda El Retiro, Finca El Chaquiral	6.98224, -75.1302	1699	-	KY347026
MHUA9540	<i>Cochranella resplendens</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio Alejandría: Vereda San Antonio, El Eden	6.36725, -75.02723	1309	-	KY347027
QCAZ 38088	<i>Cochranella resplendens</i>	Ecuador: Provincia Morona Santiago, arroyo del río Napinaza, 6.6 km hacia el norte de Macas desde parque central de Limón	-2.92665, -78.40701	1100	-	KF534361
MRC 1100	<i>Espadarana "central"</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio Guatapé: Vereda El Tronco, Finca Montepinar	6.30199, -75.14165	1864	-	-
MRC 1523	<i>Espadarana "central"</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio Valdivia: Vereda San Fermin, Reserva La Selva	7.094574, -75.484276	1840	-	-
MRC 1524	<i>Espadarana "central"</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio Valdivia: Vereda San Fermin, Reserva La Selva	7.094574, -75.484276	1840	-	-
MRC 1525	<i>Espadarana "central"</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio Valdivia: Vereda San Fermin, Reserva La Selva	7.094574, -75.484276	1840	-	-
MRC 1527	<i>Espadarana "central"</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio Valdivia: Vereda San Fermin, Reserva La Selva	7.094574, -75.484276	1840	-	-
MRC 1587	<i>Espadarana "central"</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio Yarumal: Vereda El Rosario, Reserva Natural El Reposo	7.0614667, -75.40415	1570	-	-
MRC 1590	<i>Espadarana "central"</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio Yarumal: Vereda El Rosario, Reserva Natural El Reposo	7.0614667, -75.40415	1570	-	-
MRC 1624	<i>Espadarana "central"</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio Yarumal: Vereda El Rosario, Reserva Natural El Reposo	7.0614667, -75.40415	1570	-	-
MRC 1633	<i>Espadarana "central"</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio Yarumal: Vereda El Rosario, Reserva Natural El Reposo	7.0614667, -75.40415	1570	-	-
MHUA 4099	<i>Espadarana "central"</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio Anorí: Vereda El Retiro, Finca El Chaquiral	6.983333, -75.134722	1732	-	EU662996
MHUA 8094	<i>Espadarana "central"</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio Guatapé: Vereda El Tronco, Finca Montepinar	6.30498, -75.14405	1906	-	-
MHUA 9142	<i>Espadarana "central"</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio Anorí: Vereda El Retiro, Finca El Chaquiral	6.97862, -75.12886	1742	-	-
MHUA 9148	<i>Espadarana "central"</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio Anorí: Vereda Roble Arriba, Finca El Chaquiral	6.98338, -75.13612	1719	-	-

MHUA 9149	<i>Espadarana "central"</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio Anorí: Vereda Roble Arriba, Finca El Chaquiral	6.98338, -75.13612	1719	-	-
MHUAL 0226	<i>Espadarana "central"</i>	-	-	-	-	-
AJC 2302	<i>Espadarana andina</i>	Colombia: Departamento Santander: Puente Nacional, Quebrada "La Resbaladera"	5.882000, -73.678000	1623	KP149155	KP149354
AJC 3387	<i>Espadarana andina</i>	Colombia: Departamento Santander: Puente Nacional	5.882000, -73.678000	1623	KP149240	KP149447
JMG 366	<i>Espadarana andina</i>	Venezuela: Estado de Mérida: Quebrada Azul, en el camino entre La Azulita y El Hato	8.6869444, -71.49861	-	-	EU662976
QCAZ 23910	<i>Espadarana audax</i>	Ecuador: Provincia Morona Santiago: La "Y", bifurcacion desde Gualaquiza via a Cusuco y a Paquisha	-3.43236, -78.60449	835	-	MT225187
QCAZ 37871	<i>Espadarana audax</i>	Ecuador: Provincia Morona Santiago: Gral. Leonidas Plaza Gutiérrez (Limón), arroyo del río Napinaza, 6.6 km hacia el norte de Macas	-2.92665, -78.40701	1100	-	KF534355
QCAZ 28555	<i>Espadarana callistomma</i>	Ecuador: Provincia Esmeraldas: arroyo del Río Bogotá, cerca de San Francisco de Bogotá	1.0871667, -78.6905	83	-	EU662981
QCAZ 33514	<i>Espadarana callistomma</i>	Ecuador: Provincia Esmeraldas: 4 km al norte de Durango	1.02832 N, 77.595 W	253	-	MT225188
QCAZ47909	<i>Espadarana durrellorum</i>	Ecuador: Provincia Napo Comunidad Ñukanchi Allpa, cabecera del río Canoayacu	-0.99965 -77.39619	403	-	KF534356
MRC 1588	<i>Espadarana prosoblepon</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio Yarumal: Vereda El Rosario, Reserva Natural El Reposo	7.0614667, -75.40415	1600	-	-
MRC 1589	<i>Espadarana prosoblepon</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio Yarumal: Vereda El Rosario, Reserva Natural El Reposo	7.0614667, -75.40415	1600	-	-
KRL 0761	<i>Espadarana prosoblepon</i>	Panamá: Provincia de Coclé: El Cope	8.670000, -80.592000	750	FJ766593	FJ784362
KRL 0875	<i>Espadarana prosoblepon</i>	Panamá: Provincia de Coclé: El Cope	8.670000, -80.592000	750	FJ766591	FJ784419
AJC 1684	<i>Espadarana prosoblepon</i>	Panamá: Darien: Distrito de Pinogana, Cana Station	7.756000, -77.684000	525	KR862997	KR863252
AJC 1685	<i>Espadarana prosoblepon</i>	Panamá: Darien: Distrito de Pinogana, Cana Station	7.756000, -77.684000	525	KR862994	KR863249
AJC 1776	<i>Espadarana prosoblepon</i>	Panamá: Panamá: Distrito de Chilibre, Urbanizacion de los Altos de Cerro Azul	9.231000, -79.403000	800	KR862998	KR863253

CH 6435	<i>Espadarana prosoblepon</i>	Panamá: Darien: Distrito de Pinogana, río Cana	7.762000, -77.724000	1246	KR862979	KR863234
CH 6851	<i>Espadarana prosoblepon</i>	Panamá: Panamá: Corregimiento de Chilibre: Estacion Rio Chico de la ACP, Rio Chagres sur	9.265000, -79.508000	135	KR862995	KR863250
CH 6863	<i>Espadarana prosoblepon</i>	Panamá: Panamá: Corregimiento de Chilibre: Estacion Rio Chico de la ACP, Rio Chagres sur	9.265000, -79.508000	135	KR862991	KR863246
UCR 17102	<i>Espadarana prosoblepon</i>	Costa Rica: Provincia Cartago: Cantón Paraíso: Distrito Cachí: Bajos de Cachí	9.834, -83.8062	1010	-	EU662995
Pichi 148	<i>Espadarana prosoblepon</i>	Costa Rica: Puntarenas: Pacifico Central, Londres de Quepos	9.462000, -84.063000	-	-	MN520715
Pichi 147	<i>Espadarana prosoblepon</i>	Costa Rica: Puntarenas: Talamanca, Potrero Grande, Quebrada olomina	9.098000, -83.113000	-	-	MN520714
AJC 1841	<i>Hyalinobatrachium chirripoi</i>	Panamá: Darien: Distrito de Pinogana, Cana Station	7.756000, -77.684000	525	KF604294	KF604299
MHUA 6650	<i>Hyalinobatrachium chirripoi</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio San Francisco: Vereda El Porton	5.900000, -74.960000	589	-	MH129049
ANDESA 3738	<i>Hyalinobatrachium chirripoi</i>	Colombia: Departamento Choco, 20 Km al Suroeste de Condoto	4.950000, -76.730000	137	-	MH129047
ANDESA 3739	<i>Hyalinobatrachium chirripoi</i>	Colombia: Departamento Choco, 20 Km al Suroeste de Condoto	4.950000, -76.730000	137	-	MH129048
CH 6773	<i>Hyalinobatrachium colymbiphylum</i>	Panamá: Panamá: Distrito de Chilibre, Urbanizacion de los Altos de Cerro Azul	9.231000, -79.403000	800	KF604297	KF604302
CH 6785	<i>Hyalinobatrachium colymbiphylum</i>	Panamá: Panamá: Distrito de Chilibre, Urbanizacion de los Altos de Cerro Azul	9.231000, -79.403000	675	KR863003	KR863258
CH 6830	<i>Hyalinobatrachium colymbiphylum</i>	Panamá: Panamá: Corregimiento de Chilibre: Estacion Rio Chico de la ACP, Rio Chagres sur	9.265000, -79.508000	135	KF604296	KF604301
CH 6844	<i>Hyalinobatrachium colymbiphylum</i>	Panamá: Panamá: Corregimiento de Chilibre: Estacion Rio Chico de la ACP, Rio Chagres sur	9.265000, -79.508000	135	KF604295	KF604300
AJC 1772	<i>Hyalinobatrachium colymbiphylum</i>	Panamá: Panamá: Distrito de Chilibre, Urbanizacion de los Altos de Cerro Azul	9.231000, -79.403000	675	KR863004	KR863259
LSB 384	<i>Hyalinobatrachium esmeralda</i>	Colombia: Departamento Boyaca: Municipio Pajarito, quebrada La Colonera	5.294000, -72.706000	1600	KP149161	KP149361
USNM 572134 / KRL 1175	<i>Hyalinobatrachium talamancae</i>	Panamá: Provincia de Coclé: El Cope, Parque Nacional General de División Omar Torrijos Herrera	8.667000, -80.592000	750	FJ766718	FJ784480
CH 6649	<i>Hyalinobatrachium tatayoi</i>	Panamá: Panamá: Distrito de Chilibre, Urbanizacion de los Altos de Cerro Azul	9.231000, -79.403000	675	KR863012	KR863267

CH 6654	<i>Hyalinobatrachium tatayoi</i>	Panamá: Panamá: Distrito de Chilibre, Urbanizacion de los Altos de Cerro Azul	9.231000, -79.403000	675	KR863011	KR863266
CH 6655	<i>Hyalinobatrachium tatayoi</i>	Panamá: Panamá: Distrito de Chilibre, Urbanizacion de los Altos de Cerro Azul	9.231000, -79.403000	675	KR863009	KR863264
CH 6856	<i>Hyalinobatrachium tatayoi</i>	Panamá: Panamá: Corregimiento de Chilibre: Estacion Rio Chico de la ACP, Rio Chagres sur	9.265000, -79.508000	135	KR863010	KR863265
KRL 1316	<i>Hyalinobatrachium tatayoi</i>	Panama: Provincia de Coclé: El Cope, Parque Nacional General de División Omar Torrijos Herrera	8.667000, -80.592000	750	KR863008	KR863263
MHNLS 17183	<i>Hyalinobatrachium tatayoi</i>	Venezuela: Estado Zulia: El Tocuco	9.841833, -72.820444	-	MG944514	GQ142047
MHNLS 17174	<i>Hyalinobatrachium tatayoi</i>	Venezuela: Estado Zulia: El Tocuco	9.841833, -72.820444	-	MG944513	EU663055
CH 6443	<i>Hyalinobatrachium vireovittatum</i>	Panamá: Darien: Distrito de Pinogana, río Cana	7.762000, -77.724000	1246	KF604298	KF604303
MZUTI 5001	<i>Hyalinobatrachium yaku</i>	Ecuador: Provincia Pastaza: arroyo del río Kallana	-1.4696, -77.2784	325	-	MF002065
MZUTI 5002	<i>Hyalinobatrachium yaku</i>	Ecuador: Provincia Pastaza: arroyo del río Kallana	-1.4696, -77.2784	325	-	MF002066
MRC 1529	<i>Hyalinobatrachium aureoguttatum</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio Valdivia: Vereda San Fermin, Reserva La Selva	7.094574, -75.484276	1840	-	-
MAR 544	<i>Ikakogi tayrona</i>	Colombia: Departamento Magdalena: Sierra Nevada de Santa Marta, camino a San Lorenzo	-	1800	-	EU662997
QCAZ 45702	<i>Nymphargus anomalus</i>	Ecuador: Provincia Pastaza: Río Challuwa Yaku	-1.26764, -78.04797	1668	-	MH746559
MRy 544	<i>Nymphargus cariticommatius</i>	Ecuador: Provincia Zamora Chinchipe: Shucos, en el camino viejo desde Loja a Zamora	-	-	-	MH746555
MZUTI 1417	<i>Nymphargus cariticommatius</i>	Ecuador: Provincia Morona Santiago: Camino entre Plan de Milagro y Gualaceo	-3.00774, -78.53318	2159	-	MH746554
QCAZ 22196	<i>Nymphargus cochranae</i>	Ecuador: Provincia de Orellana: km 13 en el camino Loreto–Coca	-0.5836, -77.2332	-	-	MH746558
JD060-MAR1563	<i>Nymphargus spilotus</i>	Colombia: Departamento Caldas: Parque Nacional Selvas de Florencia	-	2100	-	MH746561
MZUTI 1421	<i>Nymphargus sucre</i>	Ecuador: Provincia Morona Santiago: Camino entre Plan de Milagro y Gualaceo	-3.00774, -78.53318	2159	-	MH746552
MZUTI 1422	<i>Nymphargus sucre</i>	Ecuador: Provincia Morona Santiago: Camino entre Plan de Milagro y Gualaceo	-3.00774, -78.53318	2159	-	MH746553

LSB 376	<i>Rulyrana flavopunctata</i>	Colombia: Departamento Boyaca: Municipio Pajarito, quebrada La Limona	5.294000, -72.706000	1600	KP149252	KP149462
CORBIDI 10470	<i>Rulyrana mcdiarmidi</i>	Peru: Departamento Amazonas: north slope of Utcubamba canyon	-5.91415, -78.076444	1077	-	KM068281
CORBIDI 10473	<i>Rulyrana mcdiarmidi</i>	Peru: Departamento Amazonas: Quebrada Goca en el camino Yambrasbamba	-5.7641056, -77.912922	1711	-	KM068280
CORBIDI-HE-2010-6848	<i>Rulyrana mcdiarmidi</i>	Peru: Departamento Amazonas: cerca al pueblo Cocachimba	-6.0623, -77.8934638	1811	-	KM068279
CORBIDI 10464	<i>Rulyrana saxiscandens</i>	Peru: Departamento San Martín: 2 km este desde Ahuashiyacu	-6.4584111, -76.287319	988	-	KM068288
CORBIDI 10476	<i>Rulyrana saxiscandens</i>	Peru: Departamento San Martín: Abra Tangarana	-6.28135, -76.732738	1047	-	KM068291
CORBIDI 14151	<i>Rulyrana saxiscandens</i>	Peru: Departamento San Martín: Abra Tangarana	-6.28135, -76.732738	1047	-	KM068292
CORBIDI 14668	<i>Rulyrana saxiscandens</i>	Peru: Departamento San Martín: 2 km este desde Ahuashiyacu	-6.4584111, -76.287319	988	-	KM068289
ET-10-127	<i>Rulyrana saxiscandens</i>	Peru: Departamento San Martín: 2 km este desde Ahuashiyacu	-6.4584111, -76.287319	988	-	KM068287
MRC 1591	<i>Rulyrana susatamai</i>	Colombia: Departamento Antioquia: Municipio Yarumal: Vereda El Rosario, Reserva Natural El Reposo	7.0614667, -75.40415	1570	-	-
AJC 1755	<i>Sachatamia albomaculata</i>	Panamá: Panamá: Distrito de Chilibre, Urbanizacion de los Altos de Cerro Azul	9.231000, -79.403000	830	KR863092	KR863349
CH 6758	<i>Sachatamia albomaculata</i>	Panamá: Panamá: Distrito de Chilibre, Urbanizacion de los Altos de Cerro Azul	9.231000, -79.403000	800	KR863090	KR863347
CH 6765	<i>Sachatamia albomaculata</i>	Panamá: Panamá: Distrito de Chilibre, Urbanizacion de los Altos de Cerro Azul	9.231000, -79.403000	800	KR863091	KR863348
MVUP 1827 / KRL 0834	<i>Sachatamia albomaculata</i>	Panama: Provincia de Coclé: El Cope, Parque Nacional General de División Omar Torrijos Herrera	8.667000, -80.592000	750	FJ766599	FJ784392
USNM 572141 / KRL 0929	<i>Sachatamia albomaculata</i>	Panama: Provincia de Coclé: El Cope, Parque Nacional General de División Omar Torrijos Herrera	8.667000, -80.592000	750	FJ766598	FJ784441
AJC 1911	<i>Sachatamia ilex</i>	Panamá: Panamá: Distrito de Chepo: Corregimiento de Nargana, Refugio ANAM	9.320000, -79.289000	810	KR863103	KR863360
AJC 1956	<i>Sachatamia ilex</i>	Panamá: Panamá: Distrito de Chepo: Corregimiento de Nargana, Refugio ANAM	9.320000, -79.289000	810	KR863101	KR863358

CH 6671	<i>Sachatamia illex</i>	Panamá: Panamá: Distrito de Chepo: Corregimiento de Nargana, Refugio ANAM	9.320000, -79.289000	810	KR863100	KR863357
CH 6673	<i>Sachatamia illex</i>	Panamá: Panamá: Distrito de Chepo: Corregimiento de Nargana, Refugio ANAM	9.320000, -79.289000	810	KR863099	KR863356
CH 6748	<i>Sachatamia illex</i>	Panamá: Panamá: Distrito de Chepo: Corregimiento de Nargana, Refugio ANAM	9.320000, -79.289000	810	KR863102	KR863359
ET-10-017	<i>Teratohyla midas</i>	Peru: Departamento Amazonas: Pongo de Rentema	-5.2788, -78.40615833	557	-	KM068294
ET-10-016	<i>Teratohyla midas</i>	Peru: Departamento Amazonas: Pongo de Rentema	-5.2788, -78.40615833	557	-	KM068293
CH 6780	<i>Teratohyla spinosa</i>	Panamá: Panamá: Distrito de Chilibre, Urbanizacion de los Altos de Cerro Azul	9.231000, -79.403000	800	KR863113	KR863371
AJC 1770	<i>Teratohyla spinosa</i>	Panamá: Panamá: Distrito de Chilibre, Urbanizacion de los Altos de Cerro Azul	9.231000, -79.403000	675	KR863112	KR863370
USNM 572170 / KRL 0729	<i>Teratohyla spinosa</i>	Panama: Provincia de Coclé: El Cope, Parque Nacional General de División Omar Torrijos Herrera	8.667000, -80.592000	750	FJ766607	FJ784348
MVUP 1806 / KRL 0759	<i>Teratohyla spinosa</i>	Panama: Provincia de Coclé: El Cope, Parque Nacional General de División Omar Torrijos Herrera	8.667000, -80.592000	750	FJ766606	FJ784361
MVUP 1926 / KRL 1170	<i>Teratohyla spinosa</i>	Panama: Provincia de Coclé: El Cope, Parque Nacional General de División Omar Torrijos Herrera	8.667000, -80.592000	750	FJ766605	FJ784479
CFBHT00343b	<i>Vitreorana eurygnatha</i>	Brasil: Minas Gerais, Itamonte	-22.359000, -44.735000	-	KU494816	KU495609
CFBHT00369	<i>Vitreorana eurygnatha</i>	Brasil: Minas Gerais, Pocos de Caldas	-21.901000, -46.521000	-	KU494817	KU495610
CFBHT15374	<i>Vitreorana eurygnatha</i>	Brasil: Espirito Santo, Santa Teresa	-19.904000, -40.561000	-	KU494813	KU495606
CFBHT11709	<i>Vitreorana uranoscopa</i>	Brasil: Santa Catarina: Sideropolis, Barragem do Rio Sao Bento	-28.592000, -49.444000	-	KU494822	KU495615
CFBHT12320	<i>Vitreorana uranoscopa</i>	Brasil: Santa Catarina: Arvoredo, Pequena Central Hidreletrica de Arvoredo	-27.060000, -52.474000	-	KU494820	KU495613
CFBHT13096	<i>Vitreorana uranoscopa</i>	Brasil: Rio de Janeiro, Rio de Janeiro	-22.962000, -43.289000	-	KU494821	KU495614
CFBHT13098	<i>Vitreorana uranoscopa</i>	Brasil: Rio de Janeiro, Rio de Janeiro	-22.962000, -43.289000	-	KU494819	KU495612

Tabla S3. Medidas morfométricas de los individuos de *Espadarana andina*, *E. "central"* y *E. prosoblepon*. Los códigos de los vouchers corresponden a MHUA: Museo de Herpetología Universidad de Antioquia, UIS: Universidad Industrial de Santander, MRC: Investigador Mauricio Rivera-Correa. Todas las medidas están expresadas en milímetros (mm).

<i>Espadarana</i>	Voucher	Sexo	Longitud rostro-cloaca (mm)	Longitud cabeza (mm)	Ancho cabeza (mm)	Longitud tibia (mm)	Longitud muslo (mm)	Longitud pie (mm)	Diámetro ojo (mm)	Distancia ojo-narina (mm)	Distancia internarinal (mm)	Distancia interorbital (mm)	Diámetro disco tercer dedo (mm)
<i>andina</i>	UIS-A 7376	Macho	25,54	7,79	9,40	14,69	13,75	11,91	3,49	2,38	2,35	4,38	1,70
<i>andina</i>	UIS-A-7198	Macho	23,53	8,36	8,67	14,15	14,43	10,04	3,40	2,12	2,13	4,08	1,58
<i>andina</i>	UIS-A7221	Macho	23,62	7,89	8,33	13,75	11,66	9,93	3,19	2,32	1,98	4,11	1,08
<i>andina</i>	UIS-A7200	Macho	25,16	8,77	8,59	13,65	13,53	10,46	3,48	2,32	2,18	3,84	1,41
<i>andina</i>	UIS-A7220	Macho	23,87	7,87	8,46	13,87	12,57	10,11	3,36	2,15	2,01	4,32	1,18
<i>andina</i>	UIS-A7218	Macho	24,66	8,03	8,08	14,39	13,77	10,15	3,37	2,16	2,07	4,27	1,43
<i>andina</i>	UIS-A7199	Macho	25,05	8,45	8,79	13,99	13,63	11,25	3,63	2,20	2,10	4,33	1,45
<i>andina</i>	UIS-A7219	Macho	24,48	8,06	8,34	14,31	13,86	10,98	3,30	2,20	1,95	4,18	1,28
<i>andina</i>	UIS-A5173	Macho	27,83	8,14	9,64	14,97	14,13	11,29	3,31	2,61	2,60	3,79	1,86
<i>andina</i>	UIS-A6980	Macho	25,93	8,72	9,27	15,40	13,98	12,51	3,62	2,37	2,35	4,68	1,74
<i>andina</i>	UIS-A7224	Macho	23,43	7,93	8,17	14,29	13,71	10,37	3,29	2,17	1,86	3,99	1,18
<i>andina</i>	UIS-A6074	Macho	26,65	8,19	8,96	13,82	13,11	9,84	3,80	2,27	2,30	4,51	1,07
<i>andina</i>	UIS-A7222	Macho	23,40	7,03	8,22	13,67	13,78	10,45	3,32	2,54	1,95	4,07	1,12
<i>andina</i>	UIS-A6392	Macho	25,94	8,84	8,84	14,87	13,87	10,95	3,66	2,29	1,90	4,06	1,17
<i>andina</i>	UIS-A6117	Macho	25,50	8,22	8,91	14,13	13,98	10,36	3,44	1,83	1,96	3,60	1,11
<i>andina</i>	UIS-A5310	Hembra	27,84	8,05	9,70	15,82	14,20	11,99	3,78	2,52	2,52	4,76	1,64
<i>andina</i>	UIS-A4760	Hembra	23,20	7,85	7,91	13,89	13,67	10,94	3,14	2,14	2,08	4,05	0,99
<i>andina</i>	UIS-A6072	Hembra	28,51	8,56	8,89	15,57	14,26	11,81	3,46	2,63	2,28	4,29	1,27
<i>andina</i>	UIS-A3149	Hembra	23,93	8,04	8,41	15,09	13,81	10,51	3,34	2,50	2,26	4,24	1,32
<i>andina</i>	UIS-A7321	Hembra	26,37	7,86	9,54	14,63	14,42	11,30	3,55	2,69	2,23	3,75	1,60
<i>andina</i>	UIS-A7320	Hembra	26,66	8,11	9,12	15,27	15,20	10,55	3,49	2,30	2,18	4,78	1,50
<i>andina</i>	UIS-A6138	Hembra	27,67	9,19	9,73	15,42	13,92	12,52	3,80	2,56	2,54	3,65	1,23
<i>andina</i>	UIS-A6112	Hembra	29,32	9,14	9,89	15,48	14,08	12,63	3,74	2,59	2,57	4,45	1,84
"central"	MRC1523	Macho	24,93	8,06	8,78	13,52	13,92	10,41	3,03	2,30	2,17	4,18	1,40
"central"	MRC1524	Macho	23,29	7,58	8,43	13,98	14,34	10,51	3,36	2,14	2,02	4,19	1,34

"central"	MRC1527	Macho	23,58	8,33	8,54	13,71	13,70	10,54	3,14	1,92	2,18	3,94	1,57
"central"	MRC1587	Macho	21,35	7,40	7,91	13,19	13,16	9,91	2,97	1,98	1,78	4,06	1,21
"central"	MRC1590	Macho	22,62	7,75	7,97	13,12	13,57	10,43	2,98	2,12	2,01	3,83	1,28
"central"	MRC1633	Macho	20,95	7,11	7,38	12,56	12,94	9,82	2,88	2,12	2,11	3,94	1,34
"central"	MRC1642	Macho	22,42	8,09	7,85	13,23	13,12	10,20	2,97	2,21	1,91	3,85	1,25
"central"	MHUA-A05567	Macho	21,51	7,47	7,40	12,25	12,45	9,36	3,20	2,00	1,98	2,51	1,20
"central"	MHUA-A09149	Macho	22,16	7,39	7,76	12,67	12,80	9,53	2,81	1,82	2,10	2,38	1,16
"central"	MHUA-A05673	Macho	21,70	6,53	7,38	12,37	12,60	9,58	2,59	2,12	1,97	2,83	1,10
"central"	MHUA-A04310	Macho	22,47	7,67	7,41	12,12	13,36	9,97	2,95	2,05	2,07	2,66	1,06
"central"	MHUA-A05676	Macho	21,92	7,50	8,35	12,00	11,26	9,56	3,16	2,03	1,96	2,59	1,23
"central"	MHUA-A09143	Macho	22,04	7,68	7,50	12,52	12,71	9,52	2,83	2,11	1,86	2,79	1,05
"central"	MHUA-A09144	Macho	22,16	7,26	7,52	12,45	12,85	9,69	3,06	2,07	1,79	2,73	1,11
"central"	MHUA-A09151	Macho	25,50	9,05	8,81	14,73	15,12	11,46	3,52	2,28	2,05	2,64	1,44
"central"	MHUA-A05545	Macho	25,81	8,20	8,53	14,67	15,22	10,56	2,82	2,16	2,07	3,04	1,01
"central"	MHUA-A10627	Macho	25,94	8,10	8,56	14,36	14,58	11,00	3,27	2,24	2,01	2,50	1,53
"central"	MHUA-A05591	Macho	21,58	7,36	7,67	12,56	12,76	9,72	2,80	2,11	2,33	2,70	1,38
"central"	MHUA-A05669	Macho	22,98	7,48	8,01	12,30	12,12	9,44	3,44	1,79	1,94	2,57	1,24
"central"	MRC1849	Macho	22,38	7,04	7,57	12,50	12,45	9,62	3,18	1,77	1,89	3,99	1,42
"central"	MRC1850	Macho	23,68	7,36	8,07	14,02	14,33	10,59	3,20	1,92	2,04	4,04	1,43
"central"	MRC1870	Macho	23,35	8,04	7,98	14,07	14,06	10,88	3,04	2,08	2,13	4,40	1,22
"central"	MRC1871	Macho	25,72	8,34	8,21	14,46	14,94	11,42	3,34	2,11	2,21	4,11	1,41
"central"	MHUA-A 11205	Macho	22,02	7,42	7,41	13,62	14,04	10,15	3,04	1,85	1,89	4,06	1,21
"central"	MHUA-A 05597	Macho	21,47	7,61	7,66	12,15	12,74	9,65	3,14	1,87	1,97	3,86	1,24
"central"	MHUA-A 05591	Macho	21,18	7,36	7,33	12,34	12,46	9,67	2,83	2,01	2,23	4,05	1,30
"central"	MHUA-A 05545	Macho	25,33	7,82	8,71	14,63	15,30	10,89	2,84	2,09	2,19	4,34	1,13
"central"	MHUA-A 05576	Macho	21,51	7,70	7,90	12,00	12,04	9,44	3,06	1,98	1,86	3,71	1,23
"central"	MHUA-A 09144	Macho	21,82	7,81	7,54	12,46	13,03	9,50	3,07	1,98	1,73	3,68	1,25
"central"	MHUA-A 05672	Macho	22,59	7,56	8,11	13,05	13,16	9,58	3,33	1,81	2,01	3,95	1,23
"central"	MHUA-A 09143	Macho	22,00	8,11	7,71	12,52	12,65	9,15	2,81	1,99	1,98	3,94	1,24

"central"	MHUA-A 09150	Macho	22,15	7,27	7,62	12,31	12,74	10,05	2,50	2,01	2,02	3,73	1,23
"central"	MHUA-A 10415	Macho	23,56	7,82	8,25	13,87	14,33	11,35	2,91	2,16	1,95	3,98	1,21
"central"	MHUA-A 05673	Macho	21,55	6,60	7,49	12,46	13,06	9,84	2,74	1,97	2,00	3,87	1,10
"central"	MHUA-A 09142	Macho	22,48	7,50	7,90	12,13	12,38	9,27	3,08	2,27	1,89	3,91	1,21
"central"	MHUA-A 06249	Macho	23,58	7,18	7,60	12,75	13,53	11,07	2,92	1,80	2,10	4,02	1,52
"central"	MRC1624	Macho	21,47	7,32	7,64	13,10	13,50	9,76	2,84	2,13	1,87	4,05	1,32
"central"	MHUA-A 10416	Macho	21,79	7,43	7,63	13,90	14,03	10,64	2,88	2,22	1,97	4,23	1,22
"central"	MHUA-A 04099	Macho	24,67	8,04	8,36	13,79	13,44	10,22	3,03	2,32	2,08	4,11	1,25
"central"	MHUA-A 09148	Macho	22,16	7,55	8,00	12,90	12,97	9,27	2,66	2,22	1,89	3,93	1,23
"central"	MHUA-A 09149	Macho	21,90	7,14	7,83	12,56	12,97	9,53	2,77	2,05	2,00	3,83	1,12
"central"	MRC1525	Hembra	23,96	8,54	8,40	14,32	14,65	11,32	3,06	2,50	2,22	4,26	1,25
"central"	MHUA-A 05674	Hembra	22,06	7,80	7,82	12,94	13,04	10,46	3,01	1,90	2,12	3,98	1,09
"central"	MHUA-A 05684	Hembra	25,26	8,46	8,63	13,57	14,07	10,60	3,07	2,45	2,14	4,24	1,23
"central"	MHUA-A 09532	Hembra	23,45	8,00	8,58	13,43	13,67	9,91	3,22	2,22	2,10	4,23	1,41
<i>prosolepon</i>	UIS-A5346	Macho	26,87	8,57	8,98	15,57	14,09	11,73	3,45	2,59	2,33	3,41	1,62
<i>prosolepon</i>	UIS-A5342	Macho	27,34	8,24	8,91	15,85	14,97	10,75	3,33	2,38	2,37	2,86	1,29
<i>prosolepon</i>	UIS-A5345	Macho	28,68	8,80	9,49	15,63	14,33	11,08	3,69	2,56	2,31	3,94	1,37
<i>prosolepon</i>	UIS-A5344	Macho	27,98	8,59	9,12	15,10	14,44	11,85	3,47	2,26	2,27	3,10	1,47
<i>prosolepon</i>	MRC1588	Macho	24,00	8,44	8,66	13,96	14,58	10,21	3,26	2,29	1,84	4,35	1,43
<i>prosolepon</i>	MRC1589	Macho	25,14	8,73	8,67	14,78	14,89	11,34	3,57	2,37	2,16	4,51	1,20
<i>prosolepon</i>	MRC1632	Macho	25,38	8,11	8,50	14,77	15,57	11,81	3,30	2,51	2,34	4,40	1,26
<i>prosolepon</i>	MRC1634	Macho	23,61	8,50	8,73	14,72	14,72	10,94	3,30	2,13	1,94	4,15	1,14
<i>prosolepon</i>	MRC1794	Macho	24,44	8,31	8,70	14,69	14,05	10,83	3,65	2,19	2,09	4,22	1,39
<i>prosolepon</i>	MRC1795	Macho	23,50	7,77	7,94	13,86	14,26	9,99	2,98	2,09	1,98	4,20	1,07
<i>prosolepon</i>	MRC1891	Macho	27,59	8,86	9,34	15,74	15,79	11,47	3,32	2,40	2,47	4,73	1,50
<i>prosolepon</i>	MRC1892	Macho	25,66	7,89	8,76	14,14	14,06	10,97	3,68	2,18	2,11	4,25	1,63
<i>prosolepon</i>	MRC1899	Macho	26,46	8,19	8,69	14,81	14,11	11,26	3,51	2,30	2,23	4,27	1,74
<i>prosolepon</i>	MRC1900	Macho	25,90	8,50	9,21	15,16	15,46	11,55	3,63	2,34	2,35	4,60	1,90
<i>prosolepon</i>	MHUA-A 09663	Macho	27,35	9,14	9,85	16,00	14,40	12,29	3,67	2,24	2,25	4,80	1,75

<i>prosolepon</i>	MHUA-A 08526	Macho	25,75	8,77	8,73	15,06	14,72	12,01	3,53	2,13	1,93	4,34	1,33
<i>prosolepon</i>	MHUA-A 07091	Macho	25,56	9,17	9,13	15,64	15,71	12,62	3,68	2,48	2,17	4,56	1,84
<i>prosolepon</i>	MHUA-A 10685	Macho	26,18	8,88	9,29	14,82	15,07	11,57	3,26	2,44	2,23	4,40	1,48
<i>prosolepon</i>	MHUA-A 09665	Macho	27,10	8,55	9,07	15,22	15,09	12,20	3,48	2,23	2,22	4,38	1,65
<i>prosolepon</i>	MHUA-A 10632	Macho	25,14	8,55	8,67	14,53	14,79	11,47	3,31	2,31	1,99	4,48	1,34
<i>prosolepon</i>	MHUA-A 10948	Macho	27,80	9,17	9,38	16,48	16,82	12,06	3,70	2,18	2,06	4,71	1,58
<i>prosolepon</i>	MHUA-A 07092	Macho	28,04	9,35	9,55	15,59	15,61	12,53	3,48	2,62	2,21	4,72	1,94
<i>prosolepon</i>	MHUA-A 07090	Macho	27,80	9,25	9,61	15,78	16,33	12,68	3,63	2,70	2,25	4,80	2,21
<i>prosolepon</i>	MHUA-A 11661	Macho	27,26	8,59	8,48	14,86	15,25	11,41	3,31	2,19	2,13	4,20	1,46
<i>prosolepon</i>	UIS-A5341	Hembra	25,00	8,09	9,02	16,68	15,65	11,47	3,45	2,49	2,44	3,54	1,28
<i>prosolepon</i>	UIS-A6426	Hembra	29,18	8,66	9,68	16,75	14,57	11,86	3,24	2,47	2,10	3,71	1,33
<i>prosolepon</i>	UIS-A5735	Hembra	26,22	8,77	9,00	16,31	14,95	12,19	3,36	2,33	2,24	3,11	1,22
<i>prosolepon</i>	UIS-A5343	Hembra	26,96	8,75	9,27	16,10	14,54	12,47	3,56	2,53	2,70	3,33	1,49
<i>prosolepon</i>	MHUA-A 08587	Hembra	28,88	8,32	9,70	14,75	14,81	11,03	3,68	2,26	2,05	4,50	1,57
<i>prosolepon</i>	MHUA-A 08627	Hembra	26,84	8,71	9,64	15,39	13,35	11,29	3,46	2,59	2,13	4,63	1,47

Tabla S4. Valores numéricos de la prueba post hoc de Tukey HSD para las variables acústicas. Los grupos se abreviaron como: *Espadarana andina* = *Ea*, *Espadarana* “central” = *Ec* y *Espadarana prosolepon* = *Ep*. En negrilla se resaltan los valores de los grupos que presentan diferencias significativas ($p < 0.05$).

Prueba Tukey HSD	Duración del canto (s)	Frecuencia dominante (kHz)	Frecuencia mínima (kHz)	Frecuencia máxima (kHz)	Ancho de banda (kHz)	Numero de Pulsos
Grupos	Valor p	Valor p	Valor p	Valor p	Valor p	Valor p
<i>Ea</i> - <i>Ec</i>	1,49 * 10⁻⁰⁵	0,126	0,080	0,309	0,901	0,563
<i>Ea</i> - <i>Ep</i>	0,0	0,238	0,122	0,094	0,562	0,0001
<i>Ec</i> - <i>Ep</i>	0,0	0,010	0,003	0,007	0,757	0,0003

Tabla S5. Valores numéricos de la prueba post hoc de Tukey HSD para las variables morfométricas de los machos adultos. Los grupos se abreviaron como: *Espadarana andina* = *Ea*, *Espadarana* "central" = *Ec* y *Espadarana prosoblepon* = *Ep*. En negrilla se resaltan los valores de los grupos que presentan diferencias significativas ($p < 0.05$).

Prueba Tukey HSD	Longitud rostro-cloaca (mm)	Longitud cabeza (mm)	Ancho cabeza (mm)	Longitud tibia (mm)	Longitud muslo (mm)	Longitud pie (mm)	Diámetro ojo (mm)	Distancia ojo-narina (mm)	Distancia internarinal (mm)	Distancia interorbital (mm)	Diámetro disco tercer dedo (mm)
Grupos	Valor p	Valor p	Valor p	Valor p	Valor p	Valor p	Valor p	Valor p	Valor p	Valor p	Valor p
<i>Ea - Ec</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,584	0,008	0,000	0,000	0,062	0,004	0,272
<i>Ea - Ep</i>	0,018	0,007	0,162	0,002	0,000	0,001	0,942	0,334	0,430	0,789	0,046
<i>Ec - Ep</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabla S6. Datos numéricos de la frecuencia modulada calculada para las especies evaluadas. Pendiente media de contorno de la frecuencia dominante (PFC Avg Slope (Hz/ms)) es la medida del programa Raven empleada para la extracción de estos datos. Los valores son representados como media \pm desviación estándar seguido del rango en paréntesis.

Propiedad acústica	<i>Espadarana</i>			
	<i>andina</i>	"central"	<i>prosoblepon</i>	
			Nota 1	Nota 2
PFC Avg Slope (Hz/ms)	2,181 \pm 2,096 (-0,515 - 5,373)	1,428 \pm 0,649 (0,489 - 2,254)	3,198 \pm 1,928 (1,251 - 5,657)	2,246 \pm 1,756 (-0,049 - 4,173)