



**SONIDOS Y FORMAS REVELAN DIVERSIDAD CRÍPTICA EN LA RANA DE
RÍO *Hyloscirtus colymba* (DUNN 1931)**

Diego Alexander Botero-Álvarez

Artículo de investigación para optar al título de Biólogo

Asesor

Mauricio Rivera-Correa, PhD

Instituto de Biología

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Universidad de Antioquia, Seccional Oriente

El Carmen de Viboral, Antioquia

2021

Tabla de contenido

Resumen	3
Palabras clave.....	4
Introducción	4
Materiales y métodos	7
Fase de campo.....	8
Análisis acústico	8
Análisis morfométrico y morfológico.....	9
Análisis estadístico.....	10
Resultados	11
Comparación bioacústica	11
Descripción de cantos	12
Comparación morfométrica	15
Comparación de la coloración en vida.....	16
Discusión	17
Conclusiones	24
Agradecimientos	25
Referencias	26
Tablas	36
Figuras	38
Apéndices	45

Resumen.– *Hyloscirtus colymba* es una especie de rana de río con distribución en Costa Rica y Panamá y con algunos registros de la Cordillera Occidental de Colombia. Las poblaciones colombianas no han sido incluidas en estudios comparativos con las poblaciones centroamericanas, por lo que su taxonomía no ha sido puesta a prueba. Adicionalmente algunas poblaciones del norte de la Cordillera Central han sido descubiertas en expediciones recientes y las cuales de acuerdo a la descripción original, podrían estar relacionadas con *H. colymba*. Desde un enfoque fenotípico evaluamos dichas poblaciones empleando evidencia bioacústica y morfométrica. Nuestros resultados indican que los individuos de los Andes de Colombia difieren notablemente de las poblaciones centroamericanas, logrando distinguir cuatro poblaciones diferentes desde nuestra perspectiva integradora con relación a *H. colymba*. Describimos los cantos de anuncio y encontramos que las cuatro poblaciones andinas presentan diferencias marcadas entre ellas en algunos de sus parámetros temporales, espectrales y estructurales. Adicionalmente comparamos nuestras vocalizaciones con algunas de las especies del grupo: *H. alytolylax*, *H. mashpi*, *H. conscientia*, *H. palmeri*, y *H. simmonsii*, evidenciando que con estas tampoco existen similitudes. Los resultados morfométricos respaldan los grupos encontrados en el análisis acústico, presentando una diferenciación marcada de las poblaciones panameñas respecto a las andinas y presentando diferencias significativas en el tamaño corporal para casi todas las poblaciones, aunque son casi indistinguibles por medio de su coloración. Dada la importancia de los cantos de anuncio en el aislamiento reproductivo y la utilidad de estos y del tamaño corporal para diagnosticar las especies, las diferencias encontradas indican que posiblemente estamos ante un caso de diversidad críptica, lo que podría significar un aumento de casi el 11% en la diversidad de especies para el género.

Palabras clave.– Taxonomía, Bioacústica, Morfometría, Cantos de anuncio, Andes, Centroamérica.

Introducción

Los anfibios emplean múltiples mecanismos para su comunicación, siendo las vocalizaciones el principal método de transmisión de señales entre los anuros (Vitt & Caldwell, 2014). En los anfibios anuros, dichas vocalizaciones se clasifican de acuerdo a sus funciones o al contexto en el que son producidas, suelen ser emitidas durante interacciones intraespecíficas, interespecíficas y en encuentros con depredadores (Duellman & Trueb, 1994). Entre los tipos de señales acústicas el más estudiado ha sido el canto de anuncio, el cual se emplea principalmente para el dominio territorial, atracción hembras y desencadenar en ocasiones un evento reproductivo (Littlejohn 1977; Cocroft & Ryan, 1995, Duellman y Trueb 1994). Dado su rol en la reproducción el canto de anuncio se desempeña como un mecanismo de aislamiento reproductivo pre-cigótico (Littlejohn, 1969), por consiguiente, está sujeto a selección sexual, influenciando el fitness de los individuos (Vitt & Caldwell, 2014) y adquiriendo así un papel importante en procesos evolutivos y de especiación (Vences & Wake, 2007).

El canto de anuncio usualmente se considera especie-específico, presentado diferencias en sus parámetros cuantitativos y cualitativos, incluso entre especies estrechamente relacionadas (Littlejohn, 1969; Vences & Wake, 2007; Guayasamin et al., 2015; Rivera-Correa et al., 2017; Rada et al., 2019; Rojas-Runjaic et al., 2018; Almendáriz et al., 2014; Páez & Ron, 2019; Caminer & Ron, 2020; Köhler et al., 2017; Yáñez-Muñoz et al., 2021), convirtiéndose en una fuente valiosa de información para la identificación y como criterio para la delimitación de especies. Dado esto el canto de anuncio es especialmente relevante para diagnosticar linajes hermanos o aquellos que

presentan una morfología críptica, que bajo el enfoque de la taxonomía netamente morfológica presentan limitaciones al momento de su identificación (Dayrat, 2005; Bickford et al., 2007; Padial & De la Riva, 2009).

Por su parte, la morfometría interpreta la forma desde una perspectiva cuantitativa a partir de las mediciones de las estructuras corporales. La morfometría entonces involucra la descripción y el análisis de la variación de la forma en y entre los organismos, asimismo los cambios en la forma por efectos de crecimiento, tratamientos experimentales, efectos ecológicos o influencia de las fuerzas evolutivas (Rohlf & Marcus, 1993; Vieira et al., 2008; Borzée et al., 2013), y usualmente evaluada desde un enfoque analítico usando estadística multivariada. Las mediciones corporales son útiles para la cuantificación de la forma y para la interpretación de rasgos morfológicos, incluso aquellos que contienen señal filogenética (Wiens, 2001). La morfometría incluso puede revelar diferencias significativas entre especies consideradas crípticas (Caminer & Ron, 2020), lo que la convierte en una herramienta que puede ser de gran ayuda al momento de identificar especies.

Hyloscirtus Peters, 1882 es un género Neotropical perteneciente a la familia Hylidae que se reproduce en ecosistemas lóticos (i.e. quebradas y riachuelos), está conformado actualmente por 38 especies descritas (Frost, 2021) divididas en 4 grupos taxonómicos: *Hyloscirtus armatus*, *H. bogotensis*, *H. larinopygion*, *H. jahni*, (Faivovich et al., 2005; Guayasamin et al., 2015; Rojas-Runjaic et al., 2018; Ron et al., 2018). Su distribución comprende desde el centro de Costa Rica, en bosques húmedos en ambos flancos de los Andes en Colombia y Ecuador, en los valles interandinos y la Amazonía de Perú, Colombia, Ecuador, Venezuela y Bolivia (Frost, 2021), siendo los Andes la región donde se encuentra mayor riqueza de especies. A pesar de la relativa amplia

distribución del género algunas especies presentan distribuciones muy restringidas (IUCN, 2021).

El grupo *Hyloscirtus bogotensis* es un clado monofilético (Rojas-Runjaic et al., 2018; Yáñez-Muñoz et al., 2021), con distribución en Costa Rica, Panamá, en ambos flancos de los Andes de Colombia, Venezuela y Ecuador, en la Amazonía de Colombia, Ecuador y Perú y también en el chocó biogeográfico de Colombia y Ecuador. Está conformado por 17 especies: *H. albopunctulatus* (Boulenger, 1882), *H. alytolylax* (Duellman, 1972), *H. bogotensis* Peters, 1882, *H. callipeza* (Duellman, 1989), *H. colymba* (Dunn, 1931), *H. conscientia* Yáñez-Muñoz et al., 2021, *H. denticulentus* (Duellman, 1972), *H. japreria* Rojas-Runjaic et al., 2018, *H. lascinius* (Rivero, 1970 “1969”), *H. lynchi* (Ruiz-Carranza & Ardila-Robayo, 1991), *H. mashpi* Guayasamin et al., 2015, *H. palmeri* (Boulenger, 1908), *H. phyllognathus* (Melin, 1941), *H. piceigularis* (Ruiz-Carranza & Lynch, 1982), *H. platydactylus* (Boulenger, 1905), *H. simmonsii* (Duellman, 1989), y *H. torrenticola* (Duellman & Altig, 1978). Se ha considerado la presencia de una glándula en el mentón de los machos y visible externamente (excepto en *H. lynchi*), como una sinapomorfía morfológica del grupo y carácter diagnóstico (Duellman, 1972; Duellman, et al., 2016; Faivovich et al., 2005), sin embargo, *H. janhi*, especie hermana de todas las especies de *Hyloscirtus* también posee esta estructura (Rojas-Runjaic et al., 2018), sugiriendo un origen independiente del carácter. Posteriormente, Brunetti et al. (2015) reafirmó que este carácter no es único del grupo *H. bogotensis* sino que se ha originado múltiples veces en algunos géneros de la tribu Cophomantini (Hylidae).

Algunas especies pertenecientes al grupo *Hyloscirtus bogotensis* han sido previamente evaluadas bajo el enfoque morfométrico y bioacústico (Duellman, 1972). Dicho análisis incluyó tres caracteres morfométricos, ocho morfológicos y tres de coloración con poblaciones de *H. alytolylax*, *H. colymba*, *H. phyllognathus*, *H.*

denticulentus, *H. bogotensis* y *H. platydactylus*, además comparó siete parámetros de los cantos para *H. colymba*, *H. phyllognatus* e *H. platydactylus*. Los resultados sugieren que los datos obtenidos de los cantos son altamente discriminantes para las especies (ver Duellman, 1972). De igual manera, estudios recientes en el grupo *H. bogotensis* han mostrado que la evidencia molecular, las medidas de tamaño corporal y las vocalizaciones son caracteres importantes para diferenciar entre especies estrechamente relacionadas o morfológicamente crípticas (Guayasamin et al., 2015; Rojas-Runjaic et al., 2018)

Hyloscirtus colymba (Dunn, 1931) es una especie moderadamente pequeña, la longitud rostro-cloaca promedio para machos es 34.7 (31.9-37.9) mm, y 36.2 (31.4-39.1) mm en hembras, presenta un color verde pálido a marrón en el dorso, los machos presentan una glándula en el mentón (Duellman, 1970; Duellman, 1972). Es una especie amenazada (EN) según la lista roja de la IUCN, actualmente se distribuye en las vertientes caribeñas de Costa Rica y el occidente de Panamá y las vertientes del pacífico de centro y oriente de Panamá, entre el nivel del mar y 1410 msnm, y posiblemente se extienda hasta el noroccidente de Colombia, pero de acuerdo a Frost, (2021) sin registros confirmados. Pese a lo sugerido, algunos reportes se han referido para la Cordillera Occidental en los departamentos de Antioquia, Valle del Cauca y Risaralda entre los 1400-2250 metros de altitud (Bernal & Lynch, 2008; Sánchez, 2010; Acosta, 2021), no obstante, no han sido evaluados desde ninguna perspectiva comparativa respecto a las poblaciones centroamericanas. Dado lo anterior, y reconociendo la incertidumbre en el estatus taxonómico para las poblaciones colombianas, el objetivo de este estudio es evaluar desde un enfoque acústico y morfométrico algunas de las poblaciones asignadas a *H. colymba* reportadas para la Cordillera Occidental, sumado a poblaciones descubiertas recientemente en expediciones llevadas a cabo en la Cordillera Central.

Materiales y métodos

Fase de campo

Los muestreos se llevaron a cabo en noviembre de 2017, marzo, abril y octubre 2018 y julio y noviembre 2020 en diferentes localidades al norte de la Cordillera Central en Antioquia (Fig. 1). Se realizaron jornadas de muestreo nocturno entre las 18:00 y las 01:00 horas aproximadamente, en áreas con un gradiente altitudinal entre los 1550 a 2100 msnm, en las cuales predomina el bosque de niebla. Se aplicó un muestreo de inventario completo de especies (Rueda et al., 2006), en el cual se realizaron trayectos a lo largo de las quebradas con el objetivo de ubicar a los machos por medio de su actividad acústica. Adicionalmente se hizo búsqueda activa de individuos no vocalizantes, renacuajos y juveniles. Para los individuos encontrados se caracterizaron las condiciones de microhábitat de percha y comportamiento, así mismo se registraron variables ambientales como temperatura, condiciones del clima, coordenadas y altitud.

Análisis acústico

Las vocalizaciones de algunos machos fueron grabadas lo más cerca posible a los individuos emisores (entre 0.5 a 4.0 m) para evitar el enmascaramiento de sus cantos por el ruido ambiental y en lo posible colectados posteriormente. Los registros de sonido se realizaron con una grabadora TASCAM DR40 y TASCAM DR-22WL conectada a un micrófono unidireccional Sennheiser K6/ME66. Se obtuvieron archivos de Panamá, uno de ellos obtenido de Macaulay Library (MC194078: <http://macaulaylibrary.org>). Los sonidos se grabaron en formato WAB a una tasa de muestreo de 44.1kHz y precisión de 16 bits. Se hace el análisis mediante Raven Pro 1.6 (Center for Conservation Bioacoustics, 2019), con una FFT de 256 puntos, solapamiento 50% y una ventana de muestreo de Hann de 90%. Se analizaron un total de 1153 cantos de 38 machos diferentes. La definición de los parámetros acústicos se realizó siguiendo Köhler et al. (2017). Los parámetros cuantitativos temporales se obtuvieron de los oscilogramas y los espectrales de los

espectrogramas, estos se expresan en segundos (s) y Hertz (Hz) respectivamente. Las variables temporales fueron: duración del canto, intervalo silencioso entre cantos, duración de nota, intervalo entre notas, tasa de canto (cantos por minuto), y una variable estructural (número de notas por canto). Las variables espectrales fueron: ancho de banda, frecuencia pico (= frecuencia dominante), se usó la configuración de frecuencia 5% y frecuencia 95% en Raven para medir la frecuencia inferior y superior, además se obtiene la pendiente promedio de la curva de la frecuencia pico (Hz/ms) para comprobar cuantitativamente la modulación de las vocalizaciones según Emmrich et al. (2020). Las figuras de los sonidos se obtuvieron por medio del paquete seewave v2.1.6 (Sueur et al., 2008) y tuneR v1.3.3 (Ligges et al., 2018) para R v4.0.4 (R Development Core Team, 2021).

Análisis morfométrico y morfológico

El análisis morfométrico se llevó a cabo con especímenes colectados al norte de las Cordilleras Occidental y Central, en los departamentos de Antioquia y Caldas junto con material colectado en el Cerro Tacarcuna, región del Darién cerca de la frontera con Panamá (Apéndice 1). Los individuos fueron sacrificados con lidocaína 2%, fijados con formalina 10% y almacenados en etanol al 70%. Antes de la fijación, se extrajo tejido muscular de algunos individuos y se almacenó en etanol al 95% para estudios genéticos. Se determinó el sexo y madurez sexual, en los machos por medio de la presencia de la glándula en el mentón, saco vocal expandido y si estos eran vouchers de canto y las hembras carecen de la glándula y de saco vocal, pero tiene un mayor tamaño corporal y huevos visibles a través de la piel, si se encontraba en actividad reproductiva. En total se obtuvieron 53 individuos (48 machos y 5 hembras). Para la toma de mediciones se empleó un calibrador digital de 0.1mm de precisión para tomar las siguientes medidas: longitud rostro-cloaca (LRC, desde la punta del rostro a la cloaca), longitud de la cabeza (LC,

desde la comisura de la mandíbula a la punta del rostro), ancho de la cabeza (AC, entre ambas comisuras de la mandíbula), diámetro del ojo (DO, horizontalmente desde el ángulo anterior al posterior del ojo), distancia ojo-narina (DON, desde el margen anterior del ojo al margen posterior del orificio nasal), distancia narina-rostro (DNR, del margen anterior del orificio nasal a la punta del rostro), distancia entre narinas (DIN, entre los márgenes interiores de los orificios nasales), distancia interorbital (DIO, entre márgenes anteriores de los ojos), diámetro del tímpano (DT, sección horizontal del tímpano), longitud de antebrazo (LA, desde el codo a la base de la mano), ancho del antebrazo (AA, sección transversal del antebrazo), longitud de la mano (LM, de la base del tubérculo palmar exterior a la punta del dedo III), longitud del muslo (LF, desde la cloaca a la rodilla), longitud de la tibia (LT, de la rodilla al talón), longitud del tarso (LTA, del talón a la base del tubérculo metatarsiano interno del pie), longitud del pie (LP, del tubérculo metatarsiano interno a la punta del dedo IV), diámetro del disco del dedo III de la mano (DTD, sección transversal del disco del dedo III), diámetro del disco del dedo IV del pie (DCD, sección transversal del disco del dedo IV), de acuerdo a Watters et al. (2016). Para la descripción de la coloración en vida se implementaron las fotografías digitales. Los individuos utilizados están depositados en la colección del Museo de Herpetología Universidad de Antioquia (MHUA) y en series de campo de Mauricio Rivera-Correa (MRC), Marco Rada (MAR), Juan Manuel Renjifo (JMR) y Vicente Rueda (VR), ver Apéndice 1.

Análisis estadístico

Las bases de datos morfométricos y bioacústicos se trataron independientemente y se sometieron a las mismas pruebas estadísticas. Los datos son tratados y analizados siguiendo las recomendaciones de Palacio et al. (2020). Todos los análisis se realizaron en R v4.0.4 (R Development Core Team, 2021). Primero se realizó un análisis de

componentes principales (ACP) con el fin de reducir la redundancia de los datos y apreciar segregación entre las diferentes poblaciones estudiadas. Posteriormente se realizó un análisis de función discriminante (AFD) para determinar que variables son las que permiten una mayor discriminación entre los grupos. Para obtener los estadísticos se llevó a cabo una prueba Shapiro-Wilks de normalidad para confirmar la distribución normal de los datos a los cuales posteriormente se les aplicó ANOVA de una vía para verificar diferencias significativas de las variables entre las poblaciones estudiadas, una vez se obtuvieron diferencias significativas se realizó una prueba post-hoc de Tukey para conocer entre cuales de las poblaciones se presentaron estas diferencias.

Resultados

Comparación bioacústica

Las poblaciones que presentaron cantos estructuralmente disímiles se tomaron como grupos de estudio diferentes, a la vez dentro de estas poblaciones se evidenciaron diferencias en algunos de los parámetros espectrales, por lo que estas también son consideradas grupos diferentes. Se obtuvieron cinco grupos de estudio conformados por ocho localidades (Apéndice 1). En el análisis de componentes principales el CP1 explicó principalmente la variación en las variables espectrales, es decir, frecuencia mínima, frecuencia pico y frecuencia máxima y la temporal duración del canto; mientras el CP2 se relacionó con el ancho de banda, las notas por canto y el intervalo entre cantos (Tabla 1). El espacio acústico representado por CP1 y CP2 rescató una segregación acústica notable entre las cinco poblaciones propuestas, mostrando una diferenciación de las centroamericanas con las colombianas (Fig. 2). La variación acústica entre las poblaciones estudiadas se plasma en tabla 2. La prueba de Tuckey reveló diferencias significativas en la duración del canto, el intervalo entre cantos y las frecuencias pico, mínima y máxima de *Hyloscirtus colymba* con todas las poblaciones de Colombia ($P <$

0.001, Fig. 3, Apéndice 2). En las poblaciones colombianas la duración del canto también mostró diferencias significativas entre Frontino y Valdivia mientras que Anorí difirió de Florencia y Valdivia. El intervalo entre cantos en cambio solo varió entre Anorí y Florencia. La frecuencia mínima mostró diferencias para Florencia con Anorí y Valdivia. La frecuencia pico presentó diferencias de Valdivia con Frontino y Florencia y entre las poblaciones Anorí y Florencia. Mientras que la frecuencia máxima presentó diferencias significativas para Valdivia con todas las otras poblaciones colombianas y entre Florencia y Anorí (Apéndice 2)

Descripción de los cantos

Para mejorar la interpretación, a las poblaciones previamente asociadas con *Hyloscirtus colymba* las hemos llamado con el nombre de algunas localidades para facilitar su identificación y posterior interpretación, estas son: *Hyloscirtus colymba* (poblaciones del Darién y Panamá), Anorí (incluye las poblaciones de Anorí, Guatapé y Yarumal), Florencia (poblaciones de Samaná, Caldas), Frontino (poblaciones de Frontino y Urrao), Valdivia (solo de esta localidad).

Hyloscirtus colymba. Duellman (1970, 1972) describió el canto con base en tres individuos y nueve notas, definido como series de chirridos, cortos y agudos, similares a los de un grillo, notas producidas rápidamente (123-236/min), con 12 a 104 notas por cada grupo de cantos, cada nota con una duración promedio de 0.05 s y los grupos de cantos separados por 2-3 s. La frecuencia fundamental de 1800 Hz mientras que la frecuencia pico la ubica en el segundo armónico a 3600 Hz y usualmente con otros dos armónicos evidentes sobre esta. En el presente estudio se analizan 394 cantos de nueve individuos en los cuales encontramos que el canto de anuncio de *Hyloscirtus colymba* está compuesto por una sola nota que presenta modulación de amplitud con un solo pico. Muestra modulación en la frecuencia pico notable visualmente (Fig. 4) con un cambio

promedio de 4.271 Hz/ms. La duración promedio de cada canto es 0.03 ± 0.004 (0.03-0.04) s, los intervalos de silencio entre cantos duran en promedio 0.34 ± 0.008 (0.23-0.46) s y la tasa de canto promedio es 167.9 ± 40.1 (124.7-132.6) cantos por minuto. Los cantos se estructuran en grupos que suelen ser irregulares, pueden estar compuestos por un solo canto aislado o hasta por 253 cantos, la duración promedio de cada grupo de cantos es de 13.7 ± 16.41 (2.6-55.2) s, los intervalos entre cada grupo de cantos duran en promedio 1.99 ± 0.99 (0.94-3.64) s. La frecuencia fundamental y la frecuencia pico se encuentran en un mismo armónico con un promedio de 2899 ± 148.96 (2656-3053) Hz, el primer armónico sobre la frecuencia pico se sitúa en 5964 ± 7.48 (5958-5969) Hz. El ancho de banda promedio del canto es 234.2 ± 78.54 (158.4-364.6) Hz.

Hyloscirtus “Anori” (N=16, cantos: 488). El canto de anuncio en estas poblaciones está conformado usualmente por dos notas tonales, en muy pocas ocasiones por una o tres notas, ambas notas presentan modulación en su amplitud evidenciándose un solo pico. El canto completo no muestra modulación significativa en su frecuencia pico 0.688 Hz/ms, mientras que la primera nota muestra un cambio significativo de 2.529 Hz/ms y la segunda nota no lo presenta 0 Hz/ms (Fig. 4). La duración promedio del canto es 0.25 ± 0.029 (0.18-0.28) s, los intervalos silenciosos entre cantos tienen una duración promedio de 3.95 ± 1.92 (0.88-8.93) s, la tasa de canto promedio es de 20.2 ± 13.81 (6.9-56.9) cantos por minuto. La duración promedio de la primera nota es 0.07 ± 0.02 (0.04-0.15) s mientras que la segunda nota dura 0.09 ± 0.03 (0.05-0.15) s, el intervalo de silencio promedio entre las notas es de 0.09 ± 0.03 (0.03-0.13) s. La frecuencia pico promedio a lo largo del canto es de 2344 ± 81.8 (2237-2498) Hz, para la primera nota es 2342 ± 80 (2230-2487) Hz mientras que para la segunda esta es 2350 ± 88 (2235-2498) Hz, el canto no presentó frecuencia fundamental, la frecuencia promedio del primer armónico sobre la frecuencia pico es de 4714 ± 1166 (3488-7343) Hz, estos armónicos se pueden encontrar

sobre ambas notas o solo en una, para la primera se encuentra en 4685 ± 1149 (3488-7283) Hz y un poco más alto para la segunda 5112 ± 1166 (4467-7457) Hz. El ancho de banda para todo el canto es de 166 ± 10.96 (140-183) Hz, para la primera nota es de 171 ± 32.24 (143-278) Hz y para la segunda es 159 ± 14.09 (129-172) Hz.

***Hyloscirtus* “Florenia”** (N=5, cantos: 81). Su canto de anuncio está conformado por dos notas tonales, la primera no presenta una modulación de amplitud marcada mientras que la segunda presenta amplitud modulada sin un pico muy notable. El canto completo presenta modulación en su frecuencia pico notable con un cambio de 0.93 Hz/ms, cercano al valor límite sugerido para considerarse un canto de frecuencia modulada ($\geq 1/-1$ Hz/ms) según Emmrich et al. (2020), la primera nota presenta una modulación significativa en su frecuencia pico de 1.32 Hz/ms mientras que la segunda no exhibe una modulación marcada 0.321 Hz/ms (Fig. 4). El canto tiene una duración promedio de 0.21 ± 0.01 (0.19-0.23) s, el intervalo de silencio entre cada canto es 7.55 ± 3.91 (1.45-13.26) s, la tasa de canto promedio es 10.9 ± 3.4 (6.9-14.1) cantos por minuto. La duración promedio de la primera nota es 0.07 ± 0.01 (0.06-0.08) s y de la segunda nota 0.08 ± 0.02 (0.07-0.11) s, el promedio del intervalo silencioso entre las notas es 0.05 ± 0.01 (0.04-0.07) s. La frecuencia pico promedio del canto es 2098 ± 81.75 (1993-2182) Hz, para la primera nota es de 2094 ± 83.83 (1993-2182) Hz y para la segunda es 2131 ± 47.5 (2049-2167) Hz, no se evidenció frecuencia fundamental. La frecuencia del primer armónico sobre la frecuencia pico a lo largo del canto es 4134 Hz, mismo valor para los armónicos de ambas notas. El canto tiene un ancho de banda promedio de 200 ± 28.7 (172-248) Hz, para la primera nota es 201 ± 12.3 (168-215) Hz y para la segunda 158 ± 11.5 (141-172) Hz.

***Hyloscirtus* “Frontino”** (N=3, cantos: 111). Su canto de anuncio está compuesto por una sola nota tonal con modulación en su amplitud sin pulsos marcados. No presenta

una modulación marcada en la frecuencia pico 0.747 Hz/ms (Fig. 4). La duración promedio del canto es de 0.25 ± 0.2 (0.23-0.26) s, el intervalo silencioso entre cantos es 7.81 ± 3.63 (4.1-11.34) s, la tasa de canto promedio es 7.9 ± 5.8 (2.9-14.3) cantos por minuto. La frecuencia pico promedio es 2213 ± 83.0 (2156-2308) Hz, no se evidenció frecuencia fundamental. La frecuencia del primer armónico sobre la frecuencia pico es 3478 Hz. El ancho de banda promedio para este canto es de 212 ± 25.6 (188-239) Hz.

***Hyloscirtus* “Valdivia”** (N=5, cantos: 79). Su canto de anuncio consiste en una sola nota tonal que presenta modulación en su amplitud. Modulación evidente en su frecuencia pico con un cambio de 1.451 Hz/ms (Fig. 4). La duración promedio del canto es 0.19 ± 0.006 (0.19-0.20) s, el intervalo entre cantos es 5.74 ± 2.6 (3.6-9.34) s y la tasa de canto es 12.2 ± 4.5 (7.07-16.9) cantos por minuto. La frecuencia pico promedio es 2467 ± 42.3 (2412-2511) Hz, no se detectó frecuencia fundamental. La frecuencia del primer armónico sobre la frecuencia pico es de 3628 Hz. El ancho de banda promedio del canto es 296 ± 46.3 (236-358) Hz.

Comparación morfométrica

Debido a la poca disponibilidad de especímenes hembras (5) estas se excluyeron del análisis estadístico. Los especímenes de *Hyloscirtus colymba* de la población del Darién se distinguen casi por completo de las poblaciones colombianas mediante el ACP (Fig. 5). El primer componente explicó un 54.1% de la variabilidad y el segundo 11.5%. El ACP hace distinguibles las poblaciones de Anorí de la población de Frontino y en menor magnitud con Valdivia, mientras que con *H. colymba* y Florencia se superpone parcialmente. Florencia permaneció indistinguible de las otras poblaciones colombianas, mientras que Valdivia solo se diferencia de *H. colymba* y Anorí. Debido a poca cantidad de especímenes por localidad no fue posible realizar el análisis de función discriminante con todo el set de variables. Dado lo anterior el análisis se redujo a solo tres, teniendo

esto en cuenta, se seleccionaron aquellas variables que aportaron mayor información en el ACP (Tabla 3) y que a su vez cumplían con los parámetros requeridos de normalidad multivariada y homocedasticidad, las variables fueron: LRC ($P < 0.001$), LT ($P < 0.001$) y LM ($P < 0.001$). El AFD arrojó ocho clasificaciones erróneas (16.6%, $n=48$), dos para cada uno de los pares *H. colymba*-Anorí y Florencia-Frontino, tres para Anorí-Valdivia, y una para Florencia-Valdivia. El AFD identificó correctamente 40 individuos (83.3%, $n=48$), revelando una segregación notable entre todas las poblaciones estudiadas (Fig. 6). La variación morfométrica a lo largo de las poblaciones se recopila en la Tabla 4. El ANOVA mostró que los individuos de Frontino tienen una mayor LRC comparada con las otras poblaciones ($P < 0.05$, $n=48$, Fig. 7A), en cambio, se obtuvo que *H. colymba*, en promedio presenta el menor tamaño corporal indiferenciada únicamente con Anorí. Asimismo, Valdivia permanece diferenciada de manera significativa de *H. colymba*, Florencia y Frontino ($P < 0.01$). Resultados similares fueron encontrados en las otras medidas (i.e. longitud de la tibia, Fig. 7B).

Comparación de la coloración en vida

La coloración en vida de *Hyloscirtus colymba* va de amarillo cremoso a verde pardusco o verde brillante con pequeños puntos oscuros dispersos en el dorso, una línea blanca amarillenta en el canto rostral pasando por el párpado superior y sobre el pliegue supratimpánico hasta el hombro, manos y pies amarillentos, piernas amarillentas con un ligero tono verdoso en las almohadillas de los dedos del pie pero no por debajo de estos, vientre crema o verde azulado, la superficie inferior de las piernas brilla con un ligero tinte amarillo o verde pálido, garganta de color verde azulado, glándula en el mentón blancuzca, laterales de color amarillo crema casi uniforme con un tono pardusco dorsolateralmente, una línea amarilla rodea el pliegue anal, algunos individuos tienen una tenue línea amarilla en el borde exterior del antebrazo y del pie, el iris es marrón pálido

(Dunn, 1931; Taylor, 1952; Duellman, 1970). Las poblaciones comparten casi todas estas características de coloración, por lo que son casi indistinguibles. *H. colymba* se distingue de las poblaciones colombianas por tener una línea amarilla que pasa por encima del párpado y el pliegue supratimpánico que se extiende por una parte del torso lateral, además de que presenta puntos de color negro bien definidos. Las poblaciones Andinas también pueden presentar esta línea pero no tan marcada, además no excede el pliegue supratimpánico ni empieza desde el rostro como en *H. colymba* (Fig. 8). Las poblaciones colombianas presentan gran similitud entre ellas, además de una marcada variación intrapoblacional que dificulta su identificación, ya que no es posible encontrar características de coloración que sean diagnósticas, en consecuencia son prácticamente indistinguibles (Fig. 8, Fig. 9).

Discusión

Desde que el género *Hyloscirtus* fue resucitado por Faivovich et al. (2005), algunas inferencias filogenéticas, contribuciones taxonómicas y nuevas especies se han descrito formalmente (Mueses-Cisneros & Anganoy-Criollo, 2008; Coloma et al., 2012; Rivera-Correa & Faivovich, 2013; Almendáriz et al., 2014; Guayasamin et al., 2015; Rivera-Correa et al., 2016; Ron et al., 2018; Rojas-Runjaic et al., 2018; Yáñez-Muñoz et al., 2021). Dichos autores concuerdan en la morfología muy conservada en el género, en particular de las especies que constituyen el grupo *H. bogotensis*, constituyéndolo un buen ejemplo de biodiversidad críptica de acuerdo al concepto propuesto por Bickford et al. (2007).

No obstante, los resultados morfométricos y bioacústicos de este estudio revelan una variedad fenotípica más diversa de lo previamente sospechado para *Hyloscirtus colymba* sensu lato. Mediante el análisis acústico logramos evidenciar una segregación de las poblaciones panameñas de *H. colymba* respecto a las poblaciones colombianas (fig.

2), con diferencias más notorias en cuanto a la frecuencia pico y la duración del canto ($p < 0.001$, Fig. 3), variables ampliamente usadas y recomendadas como evidencia informativa y discriminatoria entre especies (Padial & De la Riva, 2009; Villanueva-Rivera, 2014; Kohler et al., 2017; Páez & Ron, 2019). Estas variables, son seleccionadas de manera estabilizadora por las hembras durante los eventos reproductivos, presentando así poca variación intraespecífica, por lo tanto, constituye atributos que facilitan el reconocimiento de especies (Gerhardt, 1991; Padial et al., 2010). Otro aspecto de las vocalizaciones que permite distinguir a *H. colymba* de las poblaciones andinas es la estructura del canto, *H. colymba* exhibe un canto de una sola nota que conforma grupos conformados por gran número de cantos (Duellman, 1970, 1972; este estudio). Dada la importancia de los cantos de anuncio en la reproducción como uno de los principales medios de aislamiento previo al apareamiento (Heyer et al., 1990), la bioacústica se ha constituido en taxonomía como un criterio de suma utilidad, ya que las diferencias en las vocalizaciones contribuyen a la delimitación e identificación de especies (Kohler et al., 2017; Escalona et al., 2021), por tanto las diferencias que encontramos entre las poblaciones de los Andes colombianos sugieren desde una perspectiva acústica que no deben ser atribuidas a la especie *H. colymba*.

En la región de las Cordilleras Central y Occidental, el Valle del río Cauca y en las vertientes del pacífico se distribuyen otras cinco especies del grupo *H. bogotensis*: *H. alytolylax*, *H. mashpi*, *H. conscientia*, *H. palmeri*, y *H. simmonsii*, (Frost, 2021). Las poblaciones ecuatorianas previamente asignadas a *H. colymba* fueron posteriormente descritas como *H. alytolylax* Duellman (1972). Esta última se distribuye desde el sur de Colombia hasta el sur de Ecuador y su canto consiste en series largas de fuertes silbidos, con una duración promedio de 0.529 ± 0.187 (0.264-0.811) s, contiene de cinco a ocho notas y una frecuencia de 2728 ± 248 (2239-3188) Hz (Guayasamin et al., 2015). Ninguna

de las poblaciones andinas en estudio pertenece acústicamente a *H. alytolylax*, puesto que presenta una duración y frecuencia pico mayores, además de una estructura notablemente diferente con muchas más notas por canto, mientras que las poblaciones en estudio presentan cantos con una o dos notas. Por otra parte, *H. mashpi* es una especie endémica de la vertiente occidental de los Andes de Ecuador, su canto varía de las poblaciones colombianas al tener una duración de canto de 0.353 ± 0.011 (0.330-0.380) s, una frecuencia pico de 2907 ± 37 (2842-2929) Hz y tres notas por canto (Guayasamin et al., 2015), más notas por canto y valores para la frecuencia pico y la duración notablemente mayores. Por otra parte, el canto de *H. conscentia* la especie más recientemente descrita del Ecuador y la cual es hermana de *H. mashpi* presenta un canto que tiene una duración de 0.47 a 0.65 s, una frecuencia pico que va de 2930 a 3100 Hz y conformado por series de cinco o seis notas (Yáñez-Muñoz et al., 2021), diferenciándose de todas las poblaciones estudiadas por el número de notas y valores de duración y frecuencia mayores.

Por otra parte el canto de anuncio de *H. palmeri* consiste de una a cuatro notas, cada nota con una duración promedio 0.067 segundos, la frecuencia pico cercana a 2580 Hz además de presentar frecuencia fundamental de 1200 Hz (Rivera-Correa & Faivovich, 2014), se diferencia de las otras poblaciones colombianas estudiadas por el número mayor de notas, mayor frecuencia pico y además por tener un armónico de frecuencia fundamental, no evidenciada en las poblaciones estudiadas. Por último, *H. simmonsii* presenta un canto con una duración de 0.517 ± 13 (0.515-0.542) s, tiene una frecuencia pico de 3000 Hz y está conformado por cuatro notas, (Guayasamin et al., 2015), se diferencia de las poblaciones de este estudio por presentar más notas por canto, una duración mayor y una frecuencia pico más altas. Dado el amplio conocimiento acústico en el grupo *H. bogotensis*, lo anterior sugiere que ninguna de nuestras poblaciones

acústicas pertenecen a algunas de las especies formalmente descritas que a su vez tienen sus cantos de anuncio documentados. Adicionalmente, dadas las diferencias respecto a *H. colymba*, nuestra evidencia sugiere que estamos frente a un escenario de diversidad críptica, aspecto previamente notado en los últimos trabajos realizados en el grupo (Guayasamin et al., 2015; Yáñez-Muñoz et al., 2021).

Las vocalizaciones de las poblaciones colombianas de *Hyloscirtus* aquí evaluadas son relativamente simples. En *Hyloscirtus* “valdivia” y *H.* “frontino” están compuestos por una sola mientras que en *H.* “anorí” y *H.* “florencia” se componen de dos notas. Otras diferencias están dadas por las frecuencias pico y la duración del canto (Tabla 2, Apéndice 2) y por la modulación en las frecuencias para algunos de sus componentes (Fig. 4). Pese a que las vocalizaciones de *H.* “anorí” y *H.* “florencia” parecen en primera instancia indistinguibles, el parámetro espectral frecuencia pico de la población *H.* “anorí” exhibe una frecuencia pico significativamente más alta ($p=0.0002$) y una menor duración del canto, por su parte *H.* “florencia” presenta una modulación marcada de la frecuencia pico en su primera nota (1.32 Hz/ms), mientras que *H.* “anorí” no presenta modulación a lo largo de su canto (0.688 Hz/ms). Por otra parte, *Hyloscirtus* “frontino” y *H.* “valdivia” también presentan cantos muy similares, estos se diferencian en que el primero presenta una duración de canto mayor y una frecuencia pico menor (Tabla 2, Apéndice 2) y por la modulación marcada en el canto de *H.* “valdivia” (1.451 Hz/ms, Fig. 4).

Previamente se han reportado estructuras del canto similares para algunas especies de *Hyloscirtus*, en particular en aquellas estrechamente relacionadas (Coloma et al., 2012; Rivera-Correa et al., 2017). Se ha sugerido que las similitudes se presentan en aquellas especies con distribución alopátrica (Rivera-Correa et al., 2017; Duellman & Pyles 1983; Pereyra et al., 2012; Dufresnes et al., 2018), y que podría estar explicado por la ausencia de las presiones selectivas que generan cambios en las vocalizaciones, pues no son

necesarias al habitar diferentes localidades (Blair 1958). Teniendo en cuenta nuestros datos no se han evidenciado distribución simpátrica entre las entidades con los diferentes tipos de canto incluso las poblaciones de Valdivia y Yarumal, que se encuentran relativamente cerca separadas tan solo por 9.4 Km (Fig. 1) pero de vertientes diferentes en la Cordillera. Esto parece indicar segregación espacial a nivel geográfico en el grupo *H. bogotensis*, ya que no se ha reportado hasta ahora simpatría o sintopía entre las especies, ni entre poblaciones acústicamente divergentes.

En el norte del departamento de Caldas, específicamente el PNN Selva de Florencia y en el norte del departamento de Antioquia se distribuyen varias especies de anuros compartidas entre ambas regiones (i.e. *Nymphargus grandisonae*, *N. rosada*, *Pristimantis erythropleura*, *P. taeniatatus*, *P. carylae*) (Duarte-Marín et al., 2018; Rivera-Correa et al., 2021a). De manera similar en cuanto a los anuros, las cordilleras Central y Occidental presentan afinidad biogeográfica (Kattan et al., 2004), compartiendo varias especies (i.e. *Pristimantis erythropleura*, *Nymphargus grandisonae*, *Espadarana prosoblepon*, *Andinobates cassidyhornae*) y algunas especies hermanas (i.e. *Rhinella macrorrhina* - *R. tenrec*) (Acosta, 2021; Pereyra et al., 2021). Este patrón y las similitudes encontradas en nuestras poblaciones, estas diferencias acústicas en *Hyloscirtus* podrían estar sugiriendo un parentesco, en otras palabras, las especies que cantan con una sola nota estén más estrechamente relacionadas entre ellas, al igual que los individuos de las poblaciones que presentaran dos notas. O por el contrario, que dicha similitud sea producto de convergencia evolutiva en estos atributos fenotípicos. No obstante, futuros trabajos incorporando las poblaciones acústicas en una hipótesis filogenética son muy necesarios para comprender si las similitudes acústicas son asociadas a historias evolutivas estrechamente relacionadas, además, muy importantes para comprender si la geografía puede ser un factor modelador de los patrones acústicos encontrados.

Las poblaciones de la frontera con Panamá, dentro de nuestro análisis morfométrico son las más cercanas geográficamente a la localidad tipo (286 Km lineales, fig. 1), reconociendo que no pudimos obtener mediciones de especímenes topotipo. Sin embargo, estas presentaron un tamaño corporal en promedio más pequeño, significativamente diferente a todas las poblaciones andinas excepto *H. "anori"*, no obstante ($p = 0.05$) (Apéndice 3). Aunque el análisis de componentes principales reveló poca separación entre las diferentes poblaciones andinas, sí evidencia la separación de éstas respecto a *H. colymba* (Fig. 5), y a pesar de ello, los valores p obtenidos en el ANOVA señalan que entre todos los grupos andinos se presentan diferencias significativas en cuanto el tamaño corporal, excepto para el par *H. "anori"* *H. "valdivia"* (Apéndice 3). Por otro lado, el análisis discriminante revela una distinción más evidente entre todas las poblaciones (Fig. 6). Con nuestros resultados y la evidencia encontrada por otros estudios (Guayasamin et al., 2015; Caminer & Ron, 2020; Padial & De la Riva, 2009) se resalta el tamaño corporal como un carácter importante para la diagnosis de especies, en particular en aquellas consideradas con escasos atributos diagnósticos a nivel morfológico como en este caso (Fig. 8, Fig. 9).

Nuestros resultados muestran un patrón en el que posiblemente el tamaño corporal tenga un efecto en las frecuencias pico de los cantos, ya que se presenta una relación inversa entre ambas (Fig. 3B, 7A), similar a lo encontrado por otros estudios donde tamaños corporales mayores se asocian con frecuencias más bajas (Narins & Smith, 1986; Vargas-Salinas & Amézquita, 2014), aunque se han encontrado excepciones en especies del género (Rivera-Correa et al., 2017). Sin embargo en nuestro estudio no fue posible corroborar ni corregir estadísticamente las posibles influencias del tamaño corporal dado la poca cantidad de individuos disponibles y ausencia de datos de temperatura en algunas de las grabaciones. En consecuencia, existe la necesidad de contar con bibliotecas de

sonidos que incluyan información detallada asociada a los individuos, especialmente en Colombia, donde se han descrito los cantos únicamente para 39.1% del total de las especies con distribución en el territorio nacional, y solo el 16.6% se han realizado a partir de poblaciones colombianas (Martínez-Medina et al., 2021; Rivera-Correa et al., 2021b). Por ello un esfuerzo conjunto es clave para promover el desarrollo y fortalecimiento del estudio de los sonidos en el país, tanto de los anuros como otros modelos de estudio.

Las colecciones científicas son de gran importancia porque nos permiten registrar y documentar nuestra biodiversidad, son el principal recurso para la práctica de la taxonomía y permiten conocer los cambios de la biodiversidad a través del tiempo, por lo que dadas las tasas de extinción actuales las colectas científicas son de gran importancia, pues son el testimonio de la biodiversidad que se ha perdido (Engel et al., 2021). Las colecciones del Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia (ICN) albergan la mayoría de los registros de las poblaciones de la Cordillera Occidental bajo el estatus taxonómico de *Hyloscirtus colymba*. Es así como, Bernal & Lynch (2008) revisaron la riqueza y distribución altitudinal de las especies andinas de Colombia enfatizando en los patrones de distribución, mientras que Sánchez (2010) estudió el desarrollo y variación de los renacuajos en el género *Hyloscirtus*, en ambos estudios consideraron a *H. colymba* como especie con distribución en el país, basados en los registros del ICN. Lo anterior sugiere lo importante del constante análisis con diferentes líneas de evidencia, que puede dar lugar a cambios en las identificaciones y por lo tanto impacto en las inferencias taxonómicas previas.

Nuestro estudio es un ejemplo del cómo los registros en colecciones biológicas sirvieron como fuente de información para el planteamiento de preguntas de investigación, dando como resultado la clarificación parcial de incertidumbres taxonómicas y las cuales acarrearán consigo un incremento significativo del conocimiento

de la diversidad del grupo *H. bogotensis*, especialmente para el norte de la Cordillera Central.

Finalmente, estos hallazgos también implican nuevas consideraciones en cuanto a la conservación de *H. colymba* pues se confirma que no está presente en la Cordillera Occidental, manteniendo su rango de distribución solo para Centroamérica. Es esencial la inclusión de los individuos de las poblaciones estudiadas en próximos análisis filogenéticos para evaluar sus relaciones evolutivas, cómo estas se asocian a las características de sus cantos y comprender los procesos geográficos que han influenciado su diversificación, también se requiere la revisión exhaustiva del material preservado en búsqueda de potenciales caracteres morfológicos que nos permitan identificar las especies.

Conclusiones

Dado lo anterior desde una perspectiva acústica las poblaciones evaluadas en este estudio tanto de la Cordillera Occidental como Central, indican que sus cantos son notablemente diferentes a los de *Hyloscirtus colymba* sensu *stricto*, pues no han sido reportados para ninguna de las especies formalmente descritas. Siendo así, estos resultados sugieren que podríamos estar ante al menos cuatro especies candidatas a ser descritas, y lo que podría estar representado un incremento en la riqueza de especies de casi el 11% para el género. Por su parte, la morfometría también permitió una diferenciación entre todas las poblaciones definidas en este estudio. Estos hallazgos van en la misma dirección de otros estudios en el género que sugieren especies candidatas aun no descritas formalmente (ver Guayasamin et al., 2015; Almendáriz et al., 2014; Yáñez-Muñoz et al., 2021). Se requiere la incorporación de estas poblaciones andinas en análisis filogenéticos que incluyan a todas las especies del grupo con secuencias disponibles para verificar si soportan nuestros resultados. Además, conocer la posición filogenética de las poblaciones permitiría inferir

cuales y cómo los procesos geográficos intervinieron en su diversificación. También es necesaria una revisión detallada de la morfología de los individuos de estas poblaciones, tanto adultos como en renacuajos en busca de posibles caracteres diagnósticos. Este estudio resalta la importancia de los Andes como la región biogeográfica con más riqueza en especies de anfibios, pues es un ejemplo de como un incremento de investigación en localidades poco estudiadas a las cuales no teníamos acceso permite conocer más la diversidad de nuestro territorio y eventualmente el descubrimiento de potenciales especies no descritas.

Agradecimientos.– Agradezco de manera especial a Abel Batista, Marco Rada, Juan Manuel Renjifo y Vicente Rueda por permitir el uso sus grabaciones y/o especímenes colectados. La Corporación Salvamontes por permitirnos realizar gran parte de las salidas de campo en sus reservas naturales. Los compañeros del Semillero en Biodiversidad de Anfibios (BIO) Andrés Castaño-Valencia, Hader Correa-Medina, Eliza Patiño-Ocampo y Khristian Venegas-Valencia por la colaboración en el trabajo de campo, por las recomendaciones en la revisión del material colectado, durante los análisis de datos y la construcción del manuscrito. El profesor Mauricio Rivera-Correa, por su gran ayuda durante la construcción y la ejecución de la propuesta de investigación, por su asistencia práctica y conceptual en el desarrollo de este trabajo de grado. La Universidad de Antioquia por darme la oportunidad de formarme y a mi familia por su apoyo durante toda la carrera. 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 fue producto parcial del trabajo de grado de la primera autora. El Comité de Ética para la Experimentación con Animales – CEEA, otorgó aval de investigación mediante el Acta

118 del 5 de junio de 2018 y el permiso de recolección fue amparado mediante resolución 0524 de 27 de mayo de 2014 a la Universidad de Antioquia emitida por la Autoridad Nacional de Licencias Ambientales - ANLA.

Referecias

- Acosta Galvis, A. R. 2021. Lista de los Anfibios de Colombia: Referencia en línea V.11.2021 (Marzo 10). Página web accesible en <http://www.batrachia.com>; Batrachia, Villa de Leyva, Boyacá, Colombia.
- Almendáriz, A., Brito, J., Batallas, D. & Ron, S. 2014. Una especie nueva de rana arbórea del género *Hyloscirtus* (Amphibia: Anura: Hylidae) de la Cordillera del Cóndor. *Papéis Avulsos de Zoología*, 54(4), 33–49.
- Bernal, M. H. & Lynch, J. D. 2008. Review and analysis of altitudinal distribution of the Andean anurans in Colombia. *Zootaxa*, 1826, 1–25.
- Bickford, D., Lohman, D. J., Navjot, S. S., Meier, R., Winker, K. & Das, I. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *TRENDS in Ecology and Evolution*, 22(3), 148–155.
- Blair, W. 1958. Mating Call in the Speciation of Anuran Amphibians. *The American Naturalist*, 92(862), 27–51.
- Borzée, A., Park, S., Kim, A., Kim, H. & Jang, Y. 2013. Morphometrics of two sympatric species of tree frogs in Korea: a morphological key for the critically endangered *Hyla suweonensis* in relation to *H. japonica*. *Animal Cells and Systems*, 17(5), 348–356.
- Boulenger, G. A. 1905. Descriptions of new tailless batrachians in the collection of the British Museum. *Annals and Magazine of Natural History, Series 7*, 16, 180–184.
- Boulenger, G. A. 1908. Descriptions of new batrachians and reptiles discovered by Mr. M.G. Palmer in south-western Colombia. *Annals and Magazine of Natural History, Series 8*, 2, 515–522.

- Boulenger, G. A. 1882. Catalogue of the Batrachia Salientia s. Ecaudata in the Collection of the British Museum. Second Edition. London: Taylor and Francis.
- Brunetti, A. E., Hermida, G. N., Luna, M. C., Barsotti, A. M. G., Jared, C., Antoniazzi, M. M., Rivera-Correa, M., Berneck, B. V. M. & Faivovich, J. 2015. Diversity and evolution of sexually dimorphic mental and lateral glands in Cophomantini treefrogs. *Biological Journal of the Linnean Society*, 114(1), 12–34. <https://doi.org/10.1111/bij.12406>
- Caminer, M. C. & Ron, S. R. 2020. Systematics of the *Boana semilineata* species group (Anura: Hylidae), with a description of two new species from Amazonian Ecuador. *Zoological Journal of the Linnean society*. 190(1), 149–180.
- Center for Conservation Bioacoustics. 2019. Raven Pro: Interactive Sound Analysis Software (Version 1.6.1) [computer software]. Ithaca, NY: The Cornell Lab of Ornithology. Available from <http://ravensoundsoftware.com/>.
- Cocroft, R. B. & Ryan M. J. 1995. Patterns of advertisement call evolution in toads and chorus frogs. *Animal Behavior*, 49(2), 283–303.
- Coloma, L. A., Carvajal-Endara, S., Dueñas, J. F., Paredes-Recalde, A., Morales-Mite, M., Almeida-Reinoso, D., Tapia, E. E., Hutter, C. R., Toral, E. & Guayasamin, J. M. 2012. Molecular phylogenetics of stream treefrogs of the *Hyloscirtus larinopygion* group (Anura: Hylidae), and description of two new species from Ecuador. *Zootaxa*, 3364, 1–78.
- Dayrat, B. 2005. Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85(3), 407–415.
- Duarte-Marín, S., González-Acosta, C. & Vargas-Salinas, F. 2018. Estructura y composición de ensamblaje de anfibios en tres tipos de hábitat en el Parque Nacional

- Natural Selva de Florencia, Cordillera Central de Colombia. *Revista de la academia colombiana de ciencias exactas y naturales*, 42(163), 227–236.
- Duellman W. E. 1970. *The hylid frogs of Middle America*. 2 volumes. Monograph. Museum of Natural History, University of Kansas, 1–753.
- Duellman, W. E. 1972. A review of the Neotropical frogs of the *Hyla bogotensis* group. *Occasional Papers of the Museum of Natural history, University of Kansas*, 11, 1–31.
- Duellman, W. E., & Altig R. I. 1978. New species of tree frogs (family Hylidae) from the Andes of Colombia and Ecuador. *Herpetologica*, 34, 177–185.
- Duellman, W. E. & Pyles, R. A. 1983. Acoustic resource partitioning in anuran communities. *Copeia*, 1983(3), 639–649.
- Duellman, W. E. 1989. New species of hylid frogs from the Andes of Colombia and Venezuela. *Occasional Papers of the Museum of Natural History, University of Kansas*, 131, 1–12.
- Duellman, W. E & Trueb, L. 1994. *Biology of Amphibians*. London: The Johns Hopkins University Press.
- Duellman, W. E., Marion, A. B. & Hedges, S. B. 2016. Phylogenetics, classification, and biogeography of the treefrogs (Amphibia: Anura: Arboranae). *Zootaxa*, 4104(1), 001–109.
- Dufresnes, C., Mazepa, G., Rodrigues, N., Brelford, A., Litvinchuk, S. N., Sermier, R., Lavanchy, G., Betto-Colliard, C., Blaser O., Borzée, A., Cavoto, E., Fabre, G., Ghali, K., Grosse, C., Horn, A., Leuenberger, J., Phillips, B. C., Saunders, P. A., Savary, R., Maddalena, T., Stöck, M., Dubey, S., Canestrelli, D. & Jeffries, D. L. 2018. Genomic evidence for cryptic speciation in tree frogs from the Apennine Peninsula, with description of *Hyla perrini* sp. Nov. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 6, 1–18.

Dunn, E. R. 1931. New frogs from Panamá and Costa Rica. *Occasional Papers of the Boston Society of Natural History*, 5, 385–401.

Engel, M. S., Ceríaco, L. M. P., Daniel, G. M., Dellapé, P. M., Löbl, I., Marinov, M., Reis, R. E., Young, M. T., Dubois, A., Agarwal, I., Lehmann, P., Alvarado, M., Alvarez, N., Andreone, F., Araujo-Vieira, K., Ascher, J. S., Baêta, D., Baldo, D., Bandeira, S. A., Barden, P., Barrasso, D. A., Bendifallah, L., Bockmann, F. A., Böhme, W., Borkent, A., Brandão, C. R. F., Busack, S. D., Bybee, S. M., Channing, A., Chatzimanolis, S., Christenhusz, M. J. M., Crisci, J. V., D'elía, G., Da Costa, L. M., Davis, S. R., De Lucena, C. A. S., Deuve, T., Fernandes S., Faivovich, J., Farooq, H., Ferguson, A. W., Gippoliti, S., Gonçalves, F. M. P., Gonzalez, V. H., Greenbaum, E., Hinojosa-Díaz, I. A., Jianping, I. I., Kahono, S., Kury, A. B., Lucinda, P. H. F., Lynch, J. D., Malécot, V., Marques, M. P., Marris, J. W. M., Mckellar, R. C., Mendes, L. F., Nihei, S. S., Nishikawa, K., Ohler, A., Orrico, V. G. D., Ota, H., Paiva, J., Parrinha, D., Pauwels, O. S. G., Pereyra, M. O., Pestana, L. B., Pinheiro, P. D. P., Prendini, L., Prokop, J., Rasmussen, C., Rödel, M., Trefaut, M., Rodríguez, S. M., Salatnaya, H., Sampaio, Í., Sánchez-García, A., Shebl, M. A., Santos, B. S., Solórzano-Kraemer, M. M., Sousa, A. C. A., Stoev, P., Teta, P., Trape, J., Dos Santos, C. V., Vasudevan, K., Vink, C. J., Vogel, G., Wagner, P., Wappler, T., Ware, J. L., Wedmann, S., & Kusamba, C. 1021. The taxonomic impediment: a shortage of taxonomists, not the lack of technical approaches, *Zoological Journal of the Linnean Society*, 193(2), 381–387.

Emmrich, M., Vences, M., Ernst, R., Köhler, J., Barej, M. F., Glaw, F., Jansen, M., & Rödel, M. 2020. A guild classification system proposed for anuran advertisement calls. *Zoosystematics and evolution*, 92(2), 515–525.

Escalona, M., La Marca, E., Castellanos, M., Fouquet, A., Crawford, A. j., Rojas-Runjaic, F. J. M., Giaretta, A. A., Ceñaris, J. C. & Castroviejo-Fisher, S. 2021. Integrative

taxonomy reveals a new but common Neotropical treefrog, hidden under the name *Boana xerophylla*. *Zootaxa* 4981(1), 401–448.

Faivovich, J., Haddad, C. F. b., Garcia, P. C. A., Frost, D. R., Campbell, J. A. & Wheeler, W. C. 2005. Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylinae: Phylogenetic analysis and taxonomic revision. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 294, 1–240.

Frost, D. R. 2021. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.1 (octubre 18). Electronic Database accessible at <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA. doi.org/10.5531/db.vz.0001

GBIF.org (02 July 2021) GBIF Occurrence Download <https://doi.org/10.15468/dl.7j2q9t>

Gerhardt, H. C. Female mate choice in treefrogs: static and dynamic acoustic criteria. *Animal Behavior*, 42, 615–635.

Guayasamin, J. M., Rivera-Correa, M., Artega, A., Culebras, J., Bustamante, L., Pyron, R. A., Peñafiel, N., Morochz, C. & Hutter, C. R. 2015. Molecular phylogeny of stream treefrogs (Hylidae: *Hyloscirtus bogotensis* Group), with a new species from the Andes of Ecuador. *Neotropical Biodiversity*, 1(1), 2–21. doi: 10.1080/23766808.2015.1074407

Heyer, W. R., Rand, A. S., Cruz, C. A. G., Peixoto, O. L. & Nelson, C. E. 1990. Frogs of Boracéia. *Arquivos de Zoologia*, 31(4), 231–410.

Instituto de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia (2004 y continuamente actualizado). Colecciones en Línea. Publicado en Internet <http://www.biovirtual.unal.edu.co> [10032021].

IUCN 2021. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2021-1. <https://www.iucnredlist.org>. Downloaded on [28.06.2021].

- Kattan, G. H., Franco, P., Rojas, V. & Morales, G. 2004. Biological diversification in a complex region: a spatial analysis of faunistic diversity and biogeography of the Andes of Colombia. *Journal of Biogeography*, 31(11), 1829–1839.
- Köhler, J., Jansen, M., Rodríguez, A., Kok, F. J. R., Toledo, L. F., Emmrich, M., Glaw, F., Hadad, C. F. B., Rödel, M. & Vences, M. 2017. The use of bioacoustics in anuran taxonomy: theory, terminology, methods and recommendations for best practices. *Zootaxa*, 4251(1), 001–124.
- Ligges, U., Krey, S., Mersmann, O. & Schnackenberg, S. 2018. tuneR: Analysis of Music and Speech. Available from: <https://CRAN.R-project.org/package=tuneR>
- Littlejohn, M. J. 1969. The systematic significance of insulating mechanism. *Systematic Biology: Proceedings of an International Conference*. National Academy of Science, Washington D.C., pp. 459–482.
- Littlejohn, M. J., 1977, "Long range acoustic communication in anurans: an integrated and evolutionary approach," in D. H. Taylor and S. I. Curtirían (eds.), *The Reproductive Biology of Amphibians*, New York: Plenum Press, pp 263–294.
- Martínez-Medina, D., Acevedo-Charry, O., Medellín-Bqecerra, S., Rodríguez-Fuentes, J., López-Casas, S., Muñoz-Duque, S., Rivera-Correa, M., López-Aguirre, Y., Vargas-Salinas, F., Laverde-R, O. & Rodríguez-Posada, M. E. Estado, desarrollo y tendencias de los estudios de la acústica de la fauna en Colombia. *Biota Colombiana*, 22(1), 7–25.
- Melin, D. E. 1941. Contributions to the knowledge of the Amphibia of South America. *Göteborgs Kungl. Vetenskaps-och Vitterhets-samhälles. Handlingar. Serien B, Matematiska och Naturvetenskapliga Skrifter*, 1, 1–71.

- Mueses-Cisneros, J. J. & Anganoy-Criollo, M. A. 2008. Una nueva especie del grupo *Hylosciortus larinopygion* (Amphibia: Anura: Hylidae) del suroccidente de Colombia. *Papéis Avulsos de Zoologia*, 48(15), 129–138.
- Narins, P. M. & Smith, S. L. 1989. Clinal variation in anuran advertisement calls: basis for acoustic isolation? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 19. 135–141.
- Padial, J. M. & De la Riva, I. 2009. Integrative taxonomy reveals cryptic Amazonian species of *Pristimantis* (Anura: Strabomantidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 155: 97–122.
- Padial, J. M., Miralles, A., De la Riva, I. & Vences, M. 2010. The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology*, 7(16), 1–14.
- Páez, N. B., & Ron, S. R. 2019. Systematics of *Huicundomantis*, a new subgenus of *Pristimantis* (Anura, Strabomantidae) with extraordinary cryptic diversity and eleven new species. *ZooKeys* 868, 1–112.
- Palacio, F. J., Apodaca, M. J. & Crisci, J. V. 2020. *Análisis multivariado de datos biológicos: teoría y su aplicación utilizando el lenguaje R* (1. Ed.). Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Fundación de Historia Natural Félix de Azara.
- Pereyra, M. O., Borteiro, C., Baldo, D., Kolenc, F. & Conte C. E. 2012. Advertisement call of the closely related species *Scinax aromothyella* Faivovich 2005 and *S. berthae* (Barrio 1962), with comments on the complex calls in the *S. catharinae* group. *Herpetological Journal*, 22, 133–137.
- Pereyra, M. O., Blotto, B. L., Baldo, D., Chaparro, J. C., Ron, S. R., Elias-Costa, A. J., Iglesias, P. P., Venegas, P. J., Thomé, M. T. C., Ospina-Sarria, J. J., Maciel, N. M., Rada, M., Kolenc, F., Borteiro, B., Rivera-Correa, M., Rojas-Runjaic, F. J. M., Moravec, J., De La Riva, I., Wheeler, W. C., Castroviejo-Fisher, S., Grant, T., Haddad, C. F. B., & Faivovich, J. 2021. Evolution in the genus *Rhinella*: a total evidence

- phylogenetic analysis of Neotropical true toads (Anura: Bufonidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 447(1), 1–156.
- Peters, H. W. 1882. Eine neue Gattung von Batrachiern, *Hylonomus*, aus Bogotá. *Sitzungsberichte der Gesellschaft Naturforschender Freunde zu Berlin*, 1882, 107–109.
- R Development Core Team (2021) R: A language and environment for statistical computing. Version 4.0.4. Available from: <https://www.r-project.org/> (accessed 15 may 2021).
- Rada, M., Dos Santos, P. E., Pérez-González, J. L., Anganoy-Criollo, M., Rueda-Solano, L. A., Pinto-E, M. A., Mejía, L., Vargas-Salinas, F. & Grant, T. 2019. The poverty of adult morphology: Bioacoustics, genetics, and internal morphology of glassfrog (Anura: Centrolenidae: *Ikakogi*) from the Sierra Nevada de Santa Marta, Colombia. *PLoS ONE*, 14(5), 1–46. e0215349. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215349>
- Rivera-Correa, M. & Faivovich, J. 2013. A new species of *Hyloscirtus* (Anura: Hylidae) from Colombia, with a rediagnosis of *Hyloscirtus larinopygion* (Duellman, 1973). *Herpetologica*, 69(3), 298–313.
- Rivera-Correa, M. & Faivovich, J. 2014. *Hyloscirtus palmeri* (Boulenger 1908). *Catálogo de Anfibios y reptiles de Colombia*. Medellín, 2(2), 1–6.
- Rivera-Correa, M., García-Burneo, K. & Grant, T. 2016. A new red-eye stream treefrog of *Hyloscirtus* (Anura: Hylidae) from Peru, with comments on the taxonomy of the genus. *Zootaxa*, 4061(1), 029–040.
- Rivera-Correa, M., Vargas-Salinas, F. & Grant, T. 2017. Statistical differences and biological implications: a comparative analysis of the advertisement calls of two Andean stream treefrogs (Hylidae: *Hyloscirtus*) and evolution of acoustic characters. *Salamandra*, 53(2), 237–244.

- Rivera-Correa, M., González-Durán, G. A., Saldarriaga-Gómez, A. M. & Duarte-Marín, S. 2021a. Biodiversity in the Andean Mountains: Two new rain frogs of the genus *Pristimantis* (Anura: Craugastoridae) from the northern Cordillera Central in Colombia. *Zootaxa*, 5040(3), 334–364.
- Rivera-Correa, M., Ospina-L, A. M., Rojas-Montoya, M., Venegas-Valencia, K., Rueda-Solano, L. A., Gutiérrez-Cárdenas, P. D. A. & Vargas-Salinas, F. 2021b. Cantos de las ranas y los sapos de Colombia: estado actual del conocimiento y perspectivas de investigación en ecoacústica. *Neotropical Biodiversity*, 7(1), 352–365.
- Rivero, J. A. 1970 "1969". A new species of *Hyla* (Amphibia, Salientia) from the region of Páramo de Tama, Venezuela. *Caribbean Journal of Science*, 9, 145–150.
- Rohlf, F. J. & Marcus, L. F. 1993. A Revolution in Morphometrics. *Trends in ecology and Evolution*, 8(4), 129–132.
- Rojas-Runjaic, F. J. M., Infante-Rivero, E. E., Salerno, P. E. & Meza-Joya, F. L. 2018. A new species of *Hyloscirtus* (Anura, Hylidae) from the Colombian and Venezuelan slopes of Sierra de Perijá, and the phylogenetic position of *Hyloscirtus jahni* (Rivero, 1961). *Zootaxa*, 4382, 121–146.
- Ron, S. R., Caminer, M. A., Varela-Jaramillo, A. & Almeida-Reinoso, D. 2018. A new treefrog from Cordillera del Cóndor with comments on the biographic affinity between Cordillera del Cóndor and the Guianan tepuis (Anura, Hylidae, *Hyloscirtus*). *ZooKeys*, 2018(809), 97–124. Doi: 10.3897/zookeys.809.25207.
- Rueda, J. V., Castro, F. & Cortez, C. 2006. *Técnicas para el inventario y muestreo de anfibios: Una compilación*, pp 135–17. En Angulo, A., La Marca, A., Rodríguez, J. V. & Rueda, J. V. 2006. *Técnicas de inventario y monitoreo para los anfibios de la región tropical andina*. Conservación Internacional-Serie de guías tropicales de campo 4. Bogotá D.C., Colombia.

- Ruiz-Carranza, P. M. & Lynch, J. D. 1982. Dos nuevas especies de *Hyla* (Amphibia: Anura) de Colombia, con aportes al conocimiento de *Hyla bogotensis*. *Caldasia. Bogotá*, 13, 647–671.
- Ruiz-Carranza, P. M. & Ardila-Robayo, M. C. 1991. Una nueva especie de *Hyla* del grupo *bogotensis* (Amphibia: Anura: Hylidae) de la Cordillera Oriental de Colombia. *Caldasia. Bogotá*, 16, 337–342.
- Sánchez, D. A. 2010. Larval development and synapomorphies for species groups of *Hyloscirtus* Peters, 1082 (Anura: Hylidae: Cophomantini). *Copeia*. 10, 351–363.
- Sueur, J., Aubin, T. & Simonis, C. 2008. Seewave: a free modular tool for sound analysis and synthesis. *Bioacoustics*, 18, 213–226.
<https://doi.org/10.1080/09524622.2008.9753600>
- Taylor, E. H. 1952. A review of the frogs and toads of Costa Rica. *University of Kansas Science Bulletin*, 35, 577–942.
- Vargas-Salinas, F. & Amézquita, A. 2014. Abiotic noise, call frequency and stream-breeding anuran assemblages. *Evolutionary Ecology*, 28, 341–359.
- Vences, M., & Wake, D. B. 2007. Speciation, species boundaries and phylogeography amphibians. In: Heatwole, H. & Tyler, M.J., Eds., *Amphibian Biology, Volume 7, Systematics*. (pp. 2613–2671).
- Vieira, K. S., Arzabe, C., Hernández, M. I. M., & Vieira, W. L. S. 2008. An examination of morphometric variation in a Neotropical toad population (*Proceratoprys cristiceps*, Amphibia, Anura, Cycloramphidae). *Plos One*, 3(12), 1–9.
- Villanueva-Rivera, L. J. 2014. *Eleutherodactylus* frogs show frequency but no temporal partitioning: implication for the acoustic niche hypothesis. *PeerJ*, 2, 1–14.
- Vitt, L. J. & Caldwell, J. P. 2014. *Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*, Norman, United States: Elsevier Inc.

Watters, J. L., Cummings, S. T., Flanagan, R. L. & Siler, C. D. 2016. Review of morphometric measurements used in anuran species description and recommendations for standardized approach. *Zootaxa*, 4072(4), 477–495.

Wiens, J. J. 2001. Character analysis in morphological phylogenetics: Problems and solutions. *Systematic Biology*, 50(5), 689–699.

Yáñez-Muñoz, M. H., Reyes-Puig, J. P., Batallas-Revelo, D., Broaddus, C., Urgilés-Merchán, M., Cisneros-Heredia, D. F. & Guayasamin, J. M. 2021. A new Andean treefrog (Amphibia: *Hyloscirtus bogotensis* group) from Ecuador: an example of community involvement for conservation. *PeerJ*, 1–33. 9:e11914 DOI 10.7717/peerj.11914

Tabla 1. Resultados del análisis de componentes principales resumiendo la variación en los cantos de anuncio de las poblaciones de *Hyloscirtus colymba*.

VARIABLES DEL CANTO	CP1	CP2
Duración del canto	0.41	0.003
Intervalo entre cantos	0.30	0.41
Ancho de banda	-0.18	0.73
Frecuencia mínima	-0.43	-0.21
Frecuencia pico	-0.44	-0.12
Frecuencia máxima	-0.44	-0.04
Notas por canto	0.33	-0.47

Tabla 2. Comparación de los valores de los parámetros acústicos para *H. colymba* y las poblaciones colombianas. Los datos son el rango y entre paréntesis el promedio \pm la desviación estándar. MHUA = Museo Herpetológico Universidad de Antioquia, AB = Abel Baptista; MAR = Marco Rada; MRC = Mauricio Rivera-Correa; STE = Gustavo González; NC = No colectados.

Parámetro	<i>H. colymba</i>	<i>H. “Anorí”</i>	<i>H. “Florencia”</i>	<i>H. “Frontino”</i>	<i>H. “Valdivia”</i>
Vouchers	AB132, AB135, 7 NC	MHUA5042, MRC1603-4, MRC1888-9, 11 NC	MAR2843, STE052-3, 2 NC	MAR3327, 2 NC	MRC1450, MRC1520, MRC1936, 2 NC
n individuos	9	16	5	3	5
n cantos	394	488	81	111	79
n notas	394	965	162	111	79
Notas/canto	1	1-3	2	1	1
Tasa de canto (cantos/min)	124.7-232.6 (167.9 \pm 40.1)	6.95-56.98 (20.21 \pm 13.8)	6.9-14.1 (10.9 \pm 3.4)	2.86-14.27 (7.96 \pm 5.8)	7.07-16.98 (12.2 \pm 4.5)

Intervalo entre cantos (s)	0.233-0.458 (0.348±0.087)	0.878-8.925 (3.950±1.919)	4.447-13.263 (7.547±3.913)	4.097-11.341 (7.813±3.626)	3.607-9.335 (5.744±2.600)
Duración de canto (s)	0.033-0.043 (0.037±0.004)	0.182-0.283 (0.245±0.029)	0.189-0.229 (0.208±0.015)	0.230-0.262 (0.249±0.017)	0.188-0.203 (0.199±0.006)
Ancho de banda 90% (Hz)	158.4-364.6 (234.2±78.54)	140.1-183 (165.9±11)	172-248.1 (200±28.7)	188-239 (212±25.65)	236.5-358.1 (296.4±46.3)
Frecuencia pico (Hz)	2656-3053 (2899±148.9)	2237-2498 (2344±81.8)	1993-2182 (2098±81.75)	2156-2308 (2213±83)	2412-2511 (2467±42.31)
Límite superior de la frecuencia pico (Hz)	2756-3170 (3021±135.2)	2321-2595 (2431±84)	2110-2239 (2200±53.14)	2250-2410 (2331±79.9)	2557-2657 (2617±37.85)
Límite inferior de la frecuencia pico (Hz)	2515-2976 (2787±155.1)	2153-2412 (2265±84.7)	1913-2067 (2000±63.15)	2062-2170 (2118±54)	2280-2354 (2320±30.84)
Primer armónico (Hz)	5958-5969 (5964±7.481)	3488-7343 (4714±1166)	4134	3478	3628

Tabla 3. Resultados del análisis de componentes principales resumiendo la variación morfométrica de las poblaciones de *Hyloscirtus colymba*. Abreviaciones definidas en la sección de métodos.

Variable morfométrica	CP1	CP2
LRC	0.29	-0.08
LC	0.28	0.14
AC	0.28	0.14
DO	0.14	-0.19
DON	0.15	0.26
DNR	0.11	0.48
DIN	0.15	0.41
DIO	0.23	0.23
DT	-0.05	0.49
LA	0.24	-0.28
AA	0.24	-0.18
LM	0.27	0.03
LF	0.29	-0.10
LT	0.31	-0.09
LTA	0.26	-0.17
LP	0.29	-0.09
DTD	0.26	0.02
DCD	0.22	0.07

Tabla 4. Morfometría de los especímenes adultos de las poblaciones de *H. colymba*, paréntesis indican los individuos por cada sexo. Abreviaciones definidas en la sección de métodos.

Variable morfométrica (mm)	<i>H. colymba</i> n=12		<i>H. "Anori"</i> n=24		<i>H. "Florencia"</i> n=9	<i>H. "Frontino"</i> n=4	<i>H. "Valdivia"</i> n=4
	Machos (10)	Hembras (2)	Machos (21)	Hembras (3)	Machos	Machos	Machos
LRC	32.3-35.3 (33.8±0.8)	39.4-39.8 (39.6±0.3)	33-37.9 (35.4±1.4)	40.6-43.2 (41.5±1.5)	37.8-42.3 (39.3±1.5)	39.7-46.1 (42.2±2.8)	36.1-37.1 (36.5±0.4)
LC	10.1-12.9 (11.4±1.0)	12-12.5 (12.3±0.4)	10.8-12.8 (11.7±0.6)	13-14 (13.4±0.5)	11.2-13.1 (12.3±0.6)	13.3-15.3 (14±0.9)	11.7-12.8 (12.1±0.5)
AC	10.5-12.6 (11.7±0.8)	12.6-12.7 (12.7±0.1)	11.4-13.7 (12.4±0.5)	13.5-14 (13.8±0.3)	12.1-13 (12.6±0.3)	13.6-15.8 (14.3±1.0)	12.5-13.2 (12.8±0.3)

DO	3.4-4.4 (3.8±0.3)	4.2-4.9 (4.6±0.5)	3.2-4.5 (3.8±0.4)	4.1-4.8 (4.5±0.3)	3.4-4.7 (3.9±0.4)	3.6-4.5 (4.1±0.4)	3.8-4.1 (3.9±0.2)
DON	2.1-3.2 (2.7±0.4)	2.7-3.3 (3.0±0.4)	2.5-3.8 (3.0±0.3)	2.9-3.4 (3.2±0.3)	2.8-3.4 (3.0±0.2)	2.8-3.6 (3.2±0.4)	2.5-2.9 (2.7±0.2)
DNR	1.3-2.5 (1.7±0.4)	1.1-1.3 (1.2±0.1)	1.3-1.9 (1.6±0.1)	1.5-1.7 (1.6±0.1)	1.1-2.0 (1.6±0.2)	1.5-2.0 (1.8±0.2)	1.6-1.9 (1.8±0.1)
DIN	2.5-3.4 (2.9±0.3)	2.9	1.8-3.3 (2.8±0.3)	3.0-3.3 (3.1±0.2)	2.5-3.5 (3.0±0.2)	3.4-3.8 (3.6±0.2)	3.0-3.3 (3.1±0.1)
DIO	5.4-7.5 (6.3±0.7)	6.2-7.6 (6.9±1.0)	5.6-7.7 (7.0±0.5)	7.9-8.2 (8.1±0.2)	5.4-7.8 (7.1±0.7)	7.7-8.5 (8.1±0.3)	7.1-7.5 (7.3±0.2)
DT	1.3-1.7 (1.5±0.1)	1.3	0.9-1.7 (1.4±0.2)	1.7-2.0 (1.9±0.2)	1.3-1.8 (1.4±0.1)	1.2-1.5 (1.3±0.1)	1.3-1.7 (1.5±0.2)
LA	5.8-7.2 (6.4±0.4)	7.1-7.6 (7.4±0.4)	5.8-8.7 (7.4±0.9)	9.1-9.5 (9.3±0.2)	7.5-8.9 (8.1±0.5)	8.1-9.1 (8.7±0.5)	7.1-8.2 (7.6±0.5)
AA	2.3-3.5 (2.8±0.3)	2.5-2.9 (2.7±0.3)	2.5-4.3 (3.3±0.5)	3.8-4.2 (4.0±0.2)	3.1-3.8 (3.5±0.2)	3.5-3.9 (3.8±0.2)	3.4-3.9 (3.6±0.2)
LM	9.4-10.9 (9.9±0.5)	9.9-11.0 (10.5±0.8)	9.3-11.5 (10.7±0.6)	11.5-14 (13±1.3)	10.9-12.6 (11.5±0.6)	12.3-13.8 (13.1±0.6)	11.5-12 (11.7±0.2)
LF	15.8-17.8 (16.8±0.7)	19.2-19.7 (19.5±0.4)	16.9-20.5 (18.3±0.9)	21.8-23.6 (22.7±0.9)	18-21.8 (19.3±1.1)	19-22.9 (20.9±1.8)	18.9-20.8 (19.8±0.8)
LT	15.1-17.5 (16.5±0.7)	18.9-19.4 (19.2±0.4)	16.8-20.1 (18.2±0.8)	21.7-22.5 (22.1±0.4)	19-20.7 (19.5±0.7)	20.1-23.6 (21.5±1.5)	18.9-20.2 (19.5±0.7)
LTA	8.7-10.5 (9.6±0.6)	11-12.5 (11.8±1.1)	9.0-11.3 (10.2±0.6)	11.9-13.4 (12.4±0.8)	10.3-12.5 (11.2±0.7)	11.9-13.7 (12.7±0.8)	10.4-11.5 (10.9±0.4)
LP	11-14.6 (13.2±0.9)	14.7-14.9 (14.8±0.1)	14.3-16.5 (15.4±0.7)	17.9-19 (18.6±0.6)	16-18.1 (16.6±0.7)	17.7-19.9 (18.5±1.0)	16.3-17.4 (16.9±0.5)
DTD	1.4-2.1 (1.7±0.2)	1.4-1.8 (1.6±0.3)	1.4-2.2 (1.8±0.2)	2.1-2.6 (2.2±0.3)	1.9-2.3 (2.0±0.1)	1.9-2.6 (2.2±0.3)	1.9-2.3 (2.1±0.2)
DCD	1.2-1.8 (1.5±0.2)	1.1-1.5 (1.3±0.3)	1.1-2.0 (1.5±0.2)	1.8-2.3 (2.0±0.3)	1.6-2.1 (1.8±0.2)	1.5-2.0 (1.8±0.2)	1.7-1.9 (1.8±0.1)

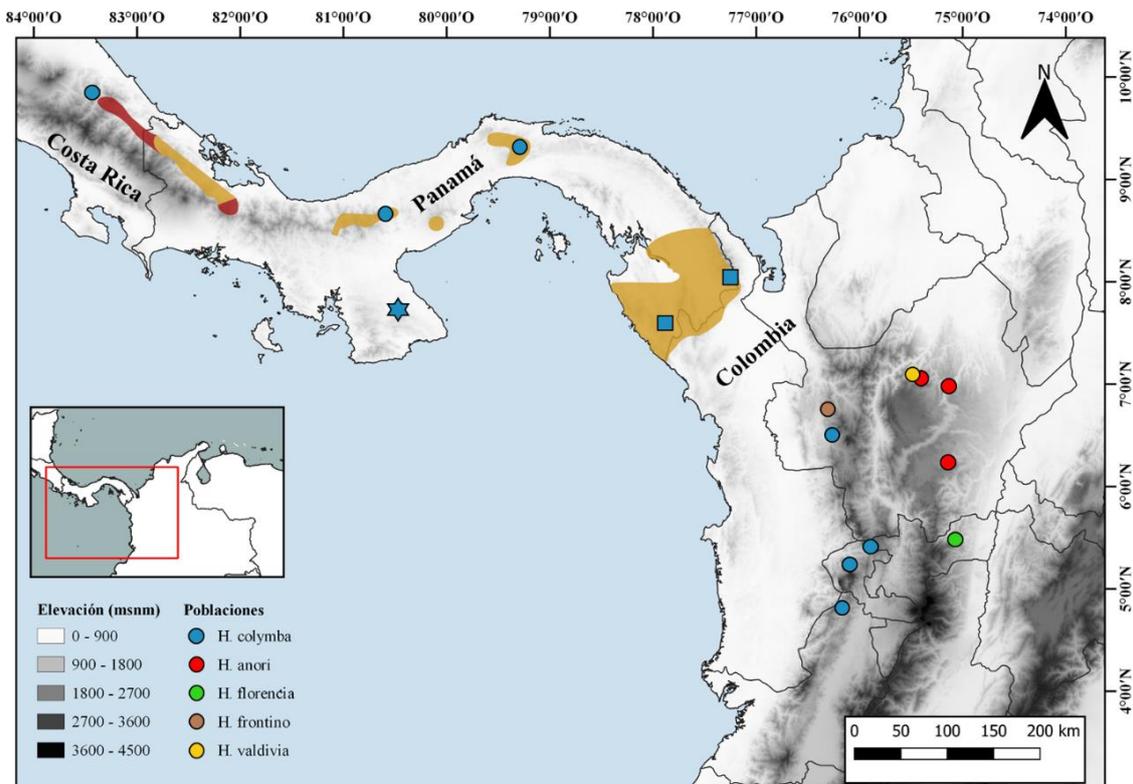


Figura 1. Mapa mostrando la distribución de *Hyloscirtus colymba* (figuras azules=registros GBIF, estrella=localidad tipo, cuadrados=localidades estudiadas) y de

las diferentes localidades andinas estudiadas. Polígono – distribución sugerida por IUCN (naranja=presente, rojo=posiblemente extinta).

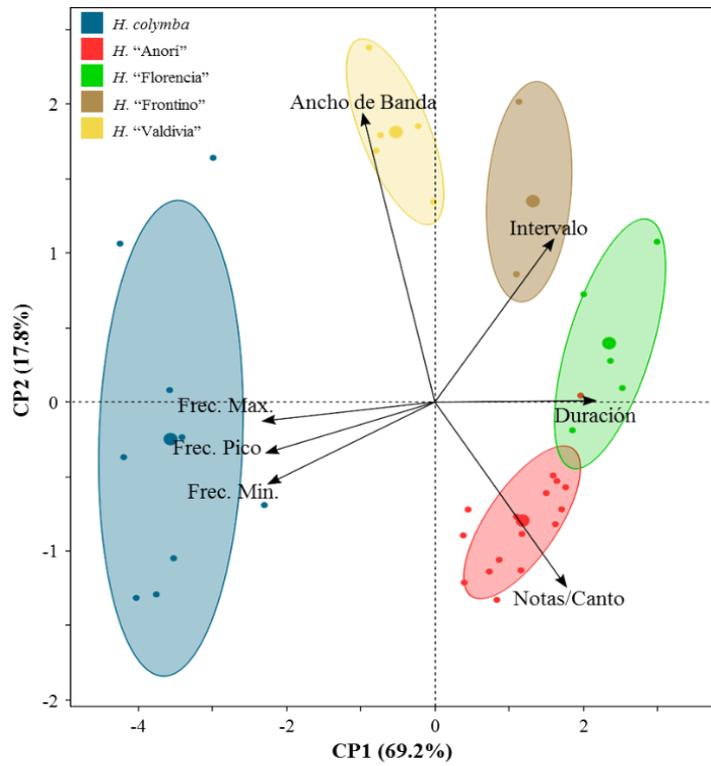


Figura 2. Análisis de componentes principales basado en siete variables de los cantos de anuncio de 38 machos de las poblaciones asignadas a *H. colymba*.

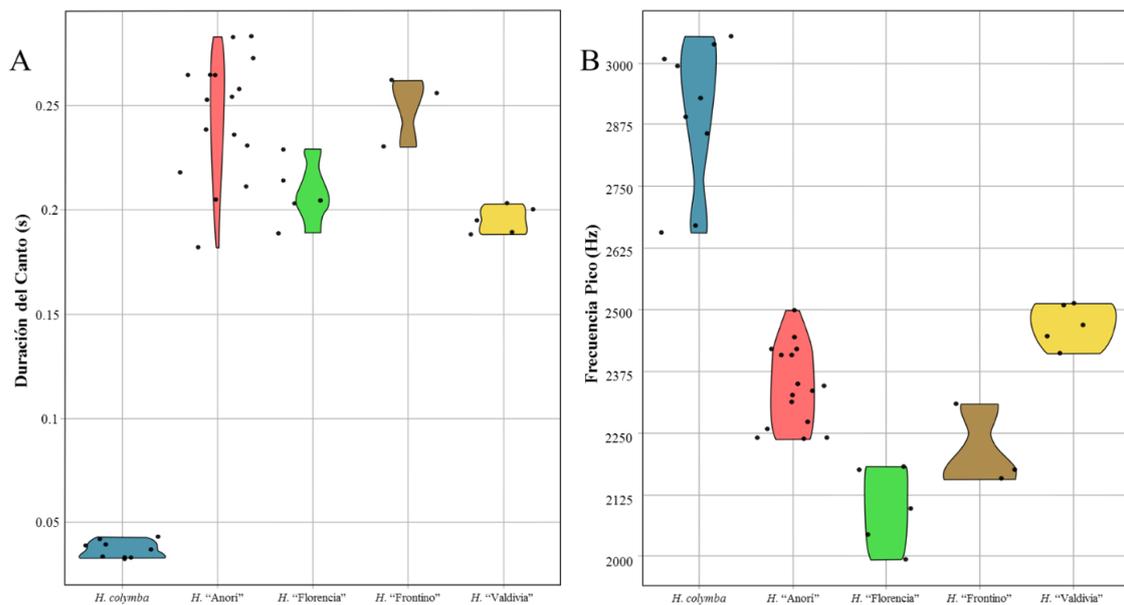


Figura 3. Gráficos de violín de la variación del canto entre las poblaciones estudiadas para los parámetros acústicos (A) duración del canto y (B) la frecuencia pico.

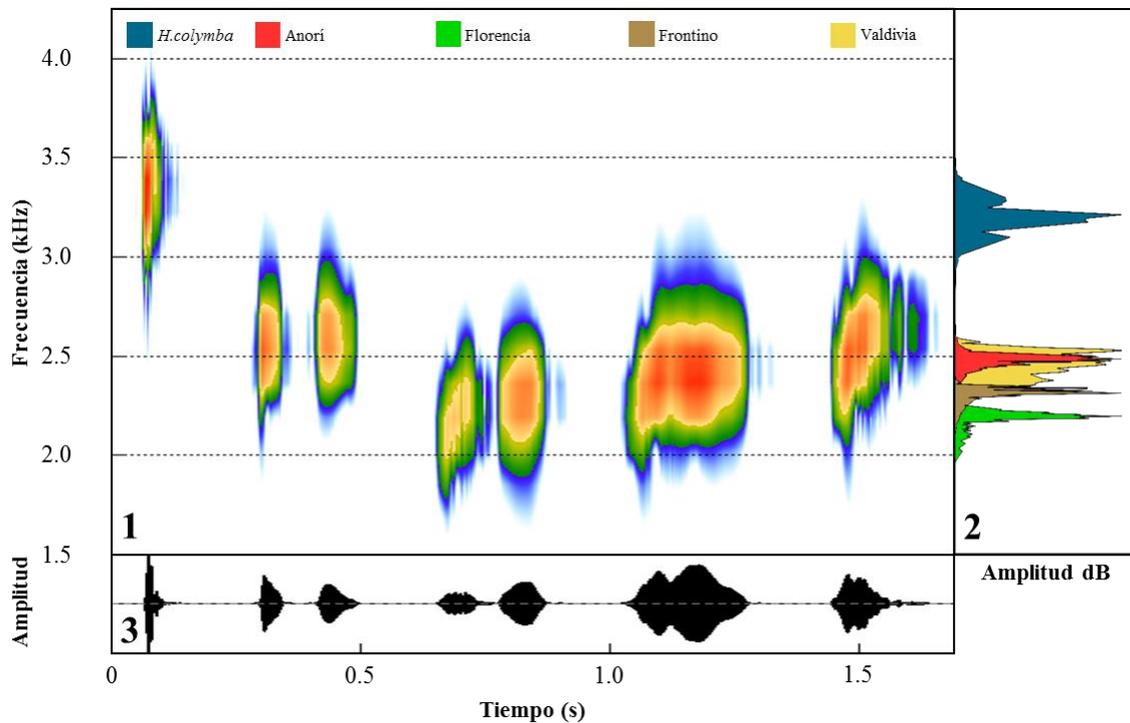


Figura 4. Diversidad de los cantos de anuncio en *Hyloscirtus colymba* y las poblaciones colombianas asociadas a esta especie. (1) Espectrograma, (2) espectro de poder y (3) oscilograma mostrando sus aspectos generales. *H. colymba* (AB132), Anorí (MRC1889), Florencia, Caldas (MAR2843), Frontino (MAR3327), Valdivia (MRC1550).

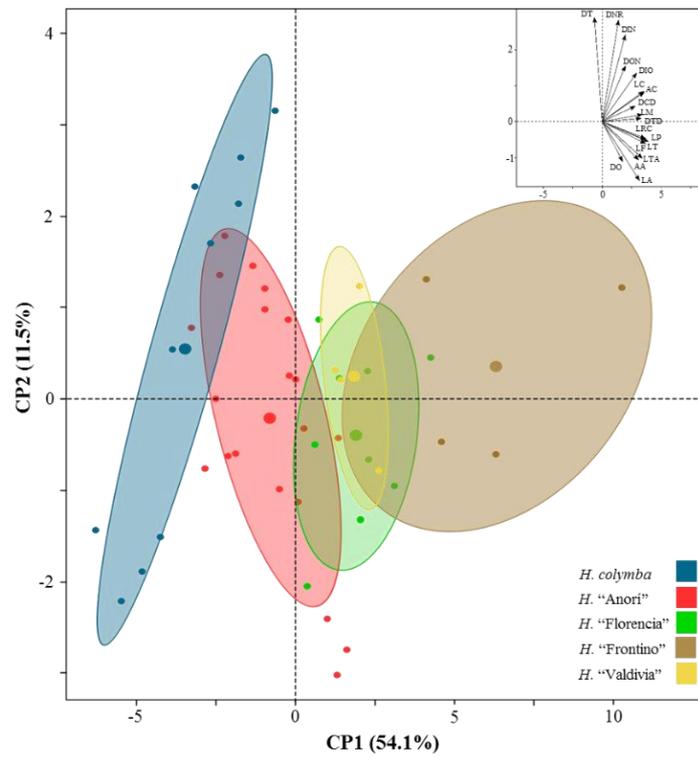


Figura 5. Análisis de componentes principales (ACP) de los caracteres morfométricos para las poblaciones de *Hyloscirtus colymba* y las poblaciones colombianas.

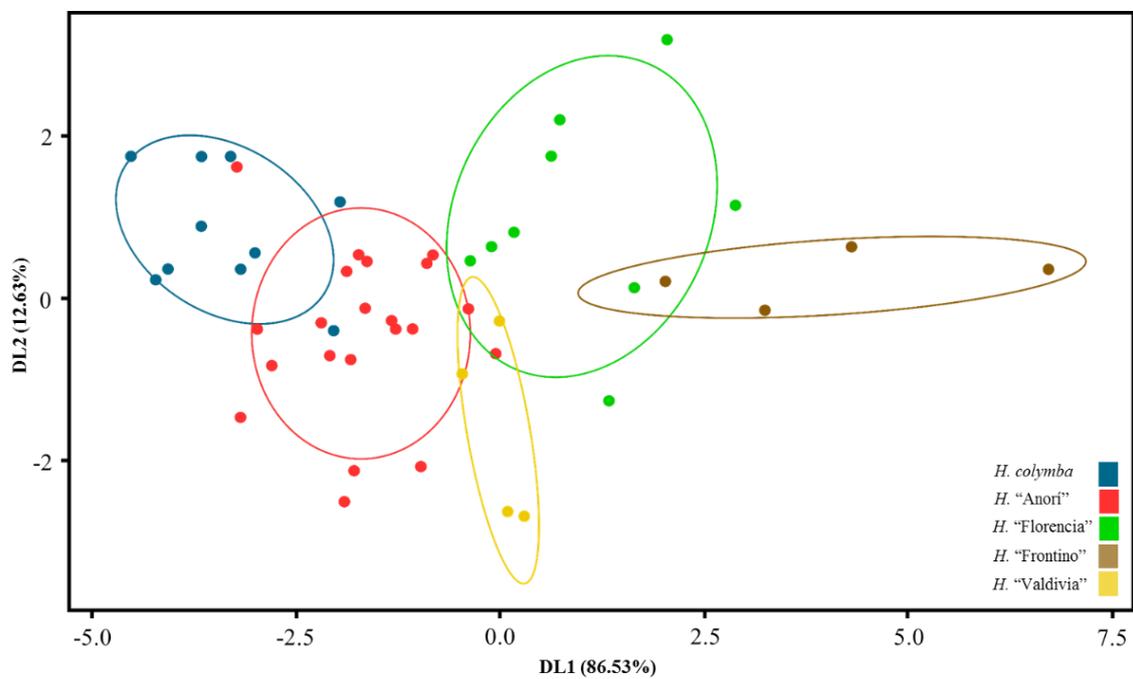


Figura 6. Análisis de función discriminante (AFD) de los caracteres morfométricos longitud rostro-cloaca (LRC), longitud de la tibia (LT) y longitud de la Mano (LM) para las poblaciones *Hyloscirtus colymba*.

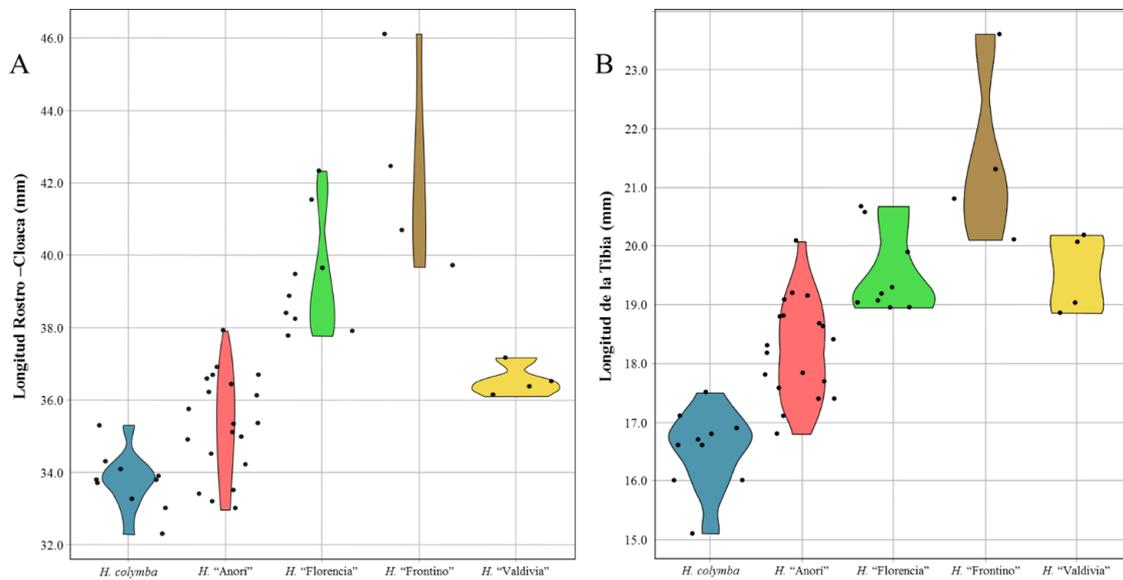


Figura 7. Gráficos de violines de las medidas morfométricas (A) longitud rostro cloaca y (B) la longitud de la tibia para los machos de las diferentes localidades estudiadas.

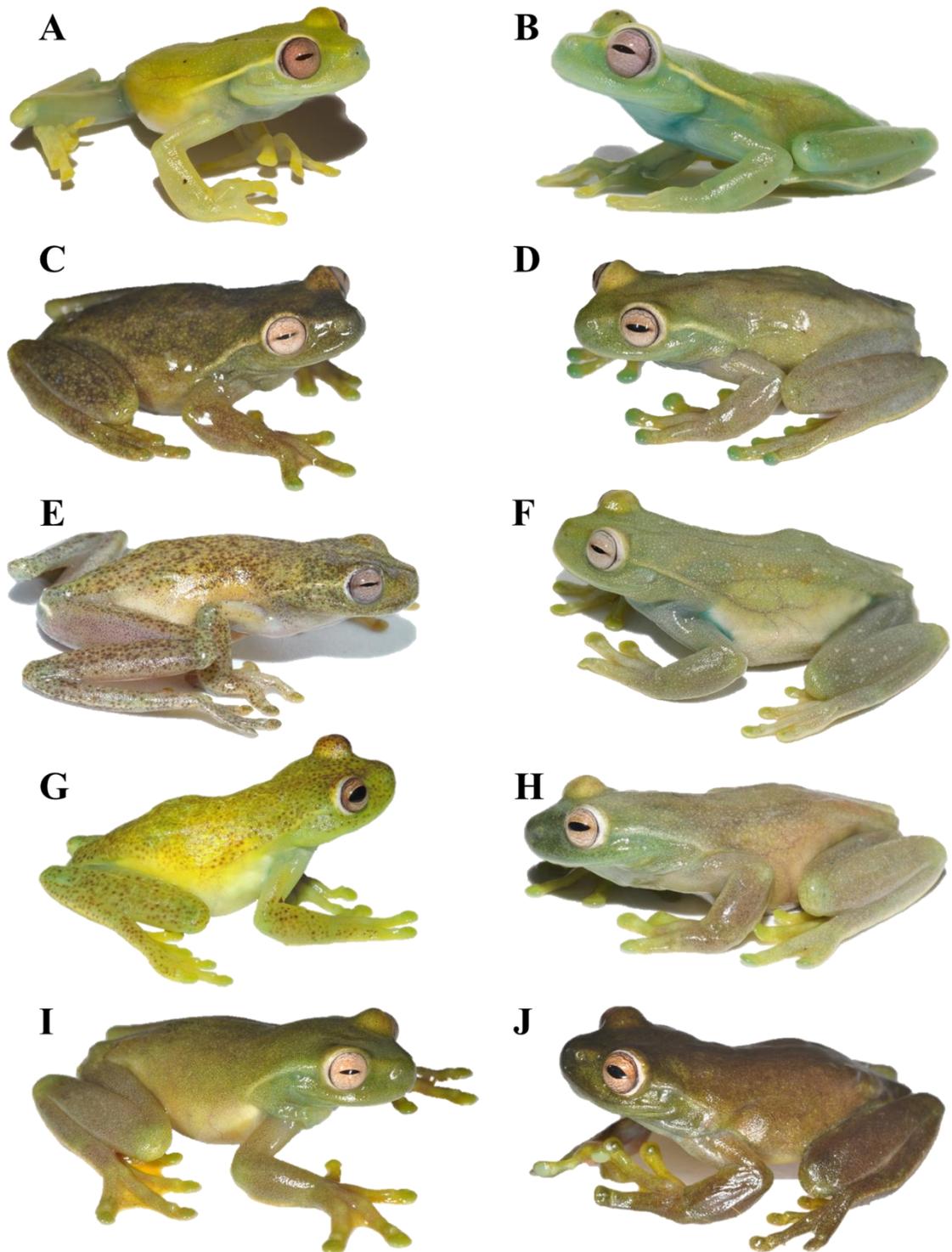


Figura 8. Especímenes en vida de las diferentes poblaciones estudiadas. (A y B) *Hyloscirtus colymba*, no colectados, de Panamá. (C) *H.* “Anorí”, MRC1604, de Yarumal, Reserva Natural Los Magnolios. (D) *H.* “Anorí”, MRC1603, de Yarumal, Reserva Natural Los Magnolios. (E) *H.* “Florencia”, MAR2844, de Samaná, Caldas, PNN Selva

de Florencia. (F) *H.* “Florencia”, MAR2842, de Samaná, Caldas, PNN Selva de Florencia. (G) *H.* “Frontino”, MAR3475, de Urrao, PNN Las Orquídeas. (H) *H.* “Frontino”, MAR3328, de Urrao, PNN Las Orquídeas. (I) *H.* “Valdivia”, MRC1936, de Valdivia, Reserva Natural La Selva. (J) *H.* “Valdivia”, MRC1520, de Valdivia, Reserva Natural La Selva. No se muestran a la misma escala. Fotos: Brian Gratwickc, Mauricio Rivera-Correa, Marco Rada, Giovanni Chávez.

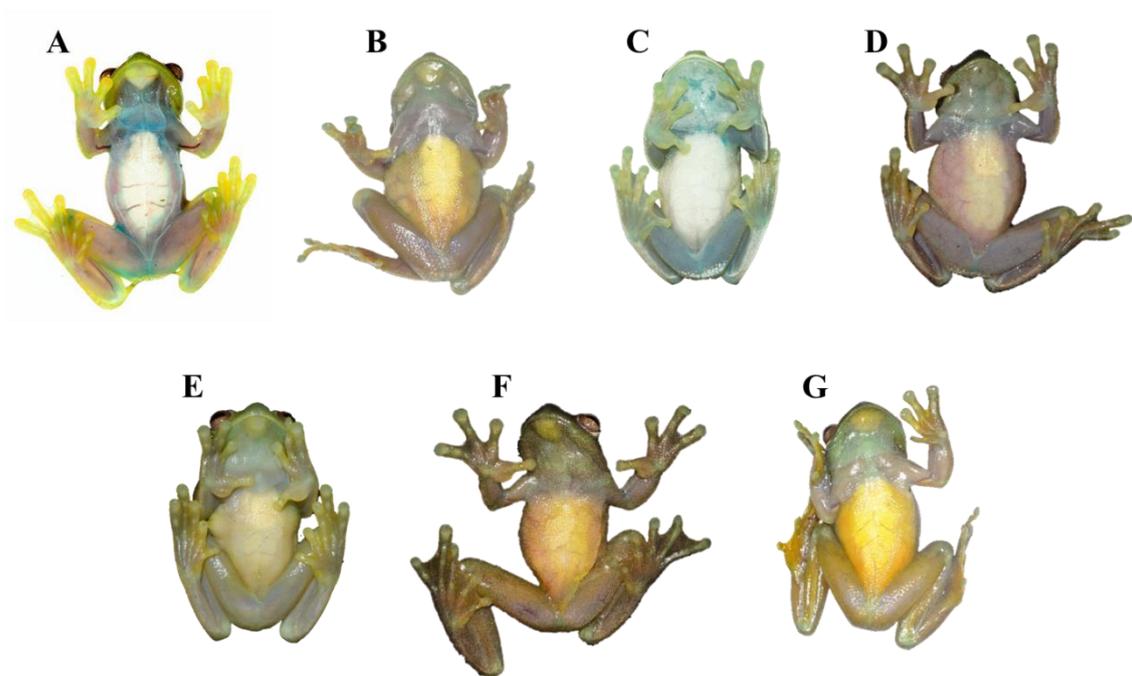


Figura 9. Variación en la coloración ventral entre y dentro de las poblaciones estudiadas. (A) *H. colymba*, no colectado, de Panamá. (B) *H.* “Anorí”, MRC1603, de Yarumal, Reserva Natural Los Magnolios. (C) *H.* “Florencia”, MAR2842, de Sananá, Caldas, PNN Selva de Florencia. (D) *H.* “Florencia”, MAR2884, de Samaná, Caldas, PNN Selva de Florencia. (E) *H.* “Frontino”, MAR3327, de Urrao, PNN Las Orquídeas. (F) *H.* “Frontino”, no colectado, de Frontino. (G) *H.* “Valdivia”, MRC1520, de Valdivia,

Reserva Natural La Selva. No se muestran a la misma escala. Fotos: Don Filipiak, Mauricio Rivera-Correa, Marco Rada, Giovanni Chávez, Víctor Quiroz.

Apéndice 1. Especímenes examinados

Hyloscirtus colymba

Colombia

Departamento de Chocó: Darién, frontera con Panamá, Cerro Tacarcuna (N8.1671028 W-77.2480638), MAR 1417, 1466-8, 1470-2, 1529-30, 1629, 1676, 1697.

***Hyloscirtus* “Anorí”**

Colombia

Departamento de Antioquia: Anorí, El Retiro, El Chaquiral (N6.983333 W-75.134722), MHUA 4096-8, 4786, 5041-2. Anorí, Cañada Honda, Quebrada El Claro (N7.0049 W-75.1457), MHUA 5025, 5032. Anorí, El Roble, Bosque la Forzosa (N6.987777 W-75.143333), MHUA 5039-40. Anorí, El Nevado, Reserva Natural El Arrierito Antioqueño (N6.978301 W-75.111101), MHUA 5360. Guatapé, Calderita, Cañada Fea (N6.2372444 W-75.1430297), MRC 1360-2, 1364. Yarumal, El Rosario, Reserva Natural Los Magnolios (N7.0614667 W-75.40415), MRC 1603-8, 1630, 1888-9.

***Hyloscirtus* “Florencia”**

Colombia

Departamento de Caldas: Samaná/Pensilvania, Parque Nacional Natural Selva de Florencia (N5.4850889 W-75.0692722), JMR 2815, 2822-4, 2881, 2884-6, VR 4826.

***Hyloscirtus* “Frontino”**

Colombia

Departamento de Antioquia: Frontino, vía Alto de Cuevas-Murrí (N6.760 W-76.308) VR 3266, 3268, 3292. Urrao, Parque Nacional Natural Las Orquídeas (N6.5373 W-76.24466138) MAR 3328.

***Hyloscirtus* “Valdivia”**

Colombia

Departamento de Antioquia: Valdivia, San Fermín, Reserva La Selva (N7.094899 W-75.482269), MRC 1449-50, 1520, 1936.

Apéndice 2. Valores P obtenidos en la prueba de Tuckey para los parámetros acústicos.

Duración del canto	<i>H. colymba</i>	<i>H. “Anorí”</i>	<i>H. “Florencia”</i>	<i>H. “Frontino”</i>
<i>H. colymba</i>	-			
<i>H. “Anorí”</i>	<0.001	-		
<i>H. “Florencia”</i>	<0.001	0.013	-	
<i>H. “Frontino”</i>	<0.001	0.997	0.0761	-
<i>H. “Valdivia”</i>	<0.001	0.0005	0.871	0.010
Intervalo entre cantos	<i>H. colymba</i>	<i>H. “Anorí”</i>	<i>H. “Florencia”</i>	<i>H. “Frontino”</i>
<i>H. colymba</i>	-			
<i>H. “Anorí”</i>	0.004	-		
<i>H. “Florencia”</i>	0.00002	0.029	-	
<i>H. “Frontino”</i>	0.0001	0.073	0.999	-
<i>H. “Valdivia”</i>	0.001	0.509	0.739	0.740
Ancho de banda	<i>H. colymba</i>	<i>H. “Anorí”</i>	<i>H. “Florencia”</i>	<i>H. “Frontino”</i>
<i>H. colymba</i>	-			
<i>H. “Anorí”</i>	0.006	-		
<i>H. “Florencia”</i>	0.640	0.566	-	
<i>H. “Frontino”</i>	0.942	0.473	0.995	-
<i>H. “Valdivia”</i>	0.095	0.00001	0.010	0.081
Frec. Min.	<i>H. colymba</i>	<i>H. “Anorí”</i>	<i>H. “Florencia”</i>	<i>H. “Frontino”</i>
<i>H. colymba</i>	-			
<i>H. “Anorí”</i>	<0.001	-		
<i>H. “Florencia”</i>	<0.001	<0.001	-	
<i>H. “Frontino”</i>	<0.001	0.156	0.486	-
<i>H. “Valdivia”</i>	<0.001	0.788	0.0001	0.058
Frec. Pico	<i>H. colymba</i>	<i>H. “Anorí”</i>	<i>H. “Florencia”</i>	<i>H. “Frontino”</i>
<i>H. colymba</i>	-			
<i>H. “Anorí”</i>	<0.001	-		
<i>H. “Florencia”</i>	<0.001	0.0002	-	
<i>H. “Frontino”</i>	<0.001	0.245	0.517	-
<i>H. “Valdivia”</i>	<0.001	0.124	0.00001	0.010
Frec. Max.	<i>H. colymba</i>	<i>H. “Anorí”</i>	<i>H. “Florencia”</i>	<i>H. “Frontino”</i>
<i>H. colymba</i>	-			
<i>H. “Anorí”</i>	<0.001	-		
<i>H. “Florencia”</i>	<0.001	0.0002	-	
<i>H. “Frontino”</i>	<0.001	0.432	0.316	-
<i>H. “Valdivia”</i>	<0.001	0.002	0.0000003	0.001
Notas por canto	<i>H. colymba</i>	<i>H. “Anorí”</i>	<i>H. “Florencia”</i>	<i>H. “Frontino”</i>
<i>H. colymba</i>	-			
<i>H. “Anorí”</i>	<0.001	-		
<i>H. “Florencia”</i>	<0.001	1.0	-	
<i>H. “Frontino”</i>	0.981	<0.001	<0.001	-
<i>H. “Valdivia”</i>	0.963	<0.001	<0.001	1.0

Apéndice 3. Valores P obtenidos en la prueba de Tuckey para las variables morfométricas.

Variable	<i>H. colymba</i> - <i>H.</i> "Anorí"	<i>H. colymba</i> - <i>H.</i> "Florencia"	<i>H. colymba</i> - <i>H.</i> "Frontino"	<i>H. colymba</i> - <i>H.</i> "Valdivia"	<i>H.</i> "anorí"- <i>H.</i> "Florencia"	<i>H.</i> "anorí"- <i>H.</i> "Frontino"	<i>H.</i> "anorí"- <i>H.</i> "Valdivia"	<i>H.</i> "Florencia"- <i>H.</i> "Frontino"	<i>H.</i> "Florencia"- <i>H.</i> "Valdivia"	<i>H.</i> "Frontino"- <i>H.</i> "Valdivia"
LRC	0.050	<0.001	<0.001	0.017	<0.001	<0.001	0.553	0.014	0.018	<0.001
LC	0.763	0.038	<0.001	0.368	0.181	<0.001	0.780	0.002	0.990	0.005
AC	0.015	0.008	<0.001	0.015	0.908	<0.001	0.731	<0.001	0.981	0.003
DO	0.997	0.997	0.706	0.966	0.964	0.503	0.888	0.844	0.994	0.983
DON	0.010	0.066	0.049	0.982	0.961	0.701	0.746	0.950	0.536	0.317
DNR	0.588	0.858	0.934	0.994	0.998	0.343	0.583	0.551	0.774	0.997
DIN	0.792	0.990	<0.001	0.822	0.498	<0.001	0.309	0.003	0.955	0.081
DIO	0.038	0.032	<0.001	0.058	0.971	0.014	0.889	0.081	0.993	0.341
DT	0.849	0.985	0.544	0.997	0.995	0.873	0.825	0.793	0.953	0.533
LA	0.011	<0.001	<0.001	0.051	0.110	0.016	0.964	0.669	0.819	0.261
AA	0.056	0.108	0.004	0.022	0.726	0.235	0.607	0.809	0.988	0.984
LM	0.254	<0.001	<0.001	0.001	0.010	<0.001	0.034	0.005	0.992	0.062
LF	0.003	<0.001	<0.001	<0.001	0.100	<0.001	0.068	0.089	0.935	0.541
LT	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.003	<0.001	0.047	0.003	0.999	0.020
LTA	0.101	<0.001	<0.001	0.008	0.001	<0.001	0.267	0.002	0.905	0.001
LP	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.003	<0.001	0.005	0.001	0.937	0.051
DTD	0.295	0.001	<0.001	0.005	0.044	0.066	0.089	0.650	0.992	0.930
DCD	0.996	0.029	0.109	0.114	0.022	0.123	0.129	0.999	0.999	1.000