

**Uso de microhábitat y sitios de vocalización de la rana *Pristimantis Bacchus* (anura:
craugastoridae)**

Wilfredo Chinchilla Lemus

Trabajo de grado como requisito para optar por el título de Biólogo

Directora:

Martha Patricia Ramírez Pinilla

PhD. en Ciencias Biológicas con orientación en Zoología

Codirector:

Victor Hugo Serrano Cardozo

PhD. en Ciencias Biológicas

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Biología

Bucaramanga

2017

Agradecimientos

A mis padres por todo el apoyo que me brindaron durante todos estos años de lucha, sin ellos esto no hubiese sido posible. A Daniela por ser esa persona incondicional que siempre tuvo esas palabras de aliento que me ayudaron a salir adelante. A mis familiares, amigos y compañeros que me acompañaron durante todos estos años de carrera e hicieron que la estadía en la ciudad fuera más agradable.

A los laboratorios de Ecología y Biología Reproductiva de Vertebrados por la ayuda brindada, al grupo de Estudios en Biodiversidad por la financiación del proyecto, a la profe Martha y al profe Víctor por el tiempo dedicado y por hacer este proyecto posible, además de brindarme todo ese conocimiento importante para mi formación.

A los habitantes de la vereda La Colorada por su hospitalidad durante los meses de trabajo, a Hernando Rueda Cala por permitirme ingresar a sus predios y a Don Elson Meneses por acogerme en su vivienda.

A José, Jeisson, Valentina, Leydy y Elson por acompañarme durante toda la fase de campo, dándome una mano para sacar adelante este proyecto.

Al wachituro por toda la colaboración con el bendito R, al Costa, Estefany, Bayona, Ximena, Luisa, Jeffersson y Chemo por brindarme su amistad y por ser parte de cada etapa vivida en la universidad y en rancho grande.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
Introducción	12
1. Marco Teórico.....	14
1.1. Uso de microhábitat	14
1.2. Sitios de preferencia para el canto en anuros.....	16
1.3. Pristimantis Bacchus	17
2. Materiales y Métodos.....	19
2.1. Área de estudio.....	19
2.2. Muestreo.....	21
2.3. Toma de datos	22
2.3.1. Caracterización del uso de microhábitat.	23
2.3.2. Identificación sitios de canto.....	24
2.4. Análisis de datos	25
2.4.1. Estructura etaria.	25
2.4.2. Uso de microhábitat.	26
2.4.3. Sitios de preferencia para el canto.	26
3. Resultados	28
3.1. Estructura etaria y tiempos de actividad.	28
3.2. Uso de microhábitat	32

3.3. Sitios de preferencia para el canto	37
4. Discusión.....	41
4.1. Estructura etaria y tiempo de actividad.....	41
4.2. Uso de microhábitat	44
4.3. Sitios de preferencia para el canto	46
4.4. Estatus de conservación de la población estudiada de <i>P. Bacchus</i>	47
5. Conclusiones	49
6. Recomendaciones.....	50
Referencias Bibliográficas	51

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1. Área de distribución de <i>Pristimantis bacchus</i> en la Vereda La Colorada, municipio de San Vicente del Chucurí, departamento de Santander, Colombia. a) Mapa de distribución en el área de estudio. b) Fotografía del relicto de bosque de estudio localizado en la finca El Diviso, Santander a 1480 msnm.	19
Figura 2. Categoría de edad para individuos de <i>P. bacchus</i> con características reproductivas. a) Hembra con presencia de folículos vitelogénicos. b) Juvenil. c) Macho con coloración de saco vocal.....	23

- Figura 3. Distribución mensual y tamaños LRC (mm) de individuos de *Pristimantis bacchus*. Machos (cuadrados), hembras (círculos), hembras juveniles (rombos) y juveniles indeterminados (triángulos). Las flechas indican el tamaño mínimo de madurez sexual para cada sexo, machos (negra) y hembra (gris). Líneas punteadas divide los individuos de sexo indeterminado de los demás individuos. Barras grises de fondo hacen referencia a la precipitación promedio histórica.....29
- Figura 4. Distribución mensual de los estados reproductivos de las hembras en la población de *P. bacchus*. HJ: Hembras juveniles (barras negras), HVI: hembras vitelogénicas I (barras blancas), HVII: hembras vitelogénicas II (barras con líneas diagonales), y HNR: hembras adultas no reproductivas (barras grises). Los valores asignados sobre cada barra hacen referencia al n total de hembras capturadas por mes.31
- Figura 5. Amplexo axilar en individuos de *P. bacchus*, ubicado sobre hoja a 80 cm de la hojarasca. Se observa claramente el dimorfismo sexual marcado por tamaño (LRC) que presenta.31
- Figura 6. Variación en el número de individuos capturados durante los periodos estacionales. Lluvia (barra oscura) y sequía (barras grises), junto con la precipitación del área de estudio (línea negra punteada).....32
- Figura 7. Microhábitats utilizados por individuos de *P. bacchus* por sexo y estructura de edad (a), y por condición reproductiva en hembras: hembras juveniles (HJ), hembras vitelogénicas I (HVI), hembras vitelogénicas II (HVII), adultas no reproductivas (HNR) (b). La altura de la percha está dividida por categorías 0-40 (I), 41-80 (II), 81-120 (III), 121-160 (IV), 161-200 (V) cm.34

Figura 8. Relación entre el peso (g) y la longitud rostro cloacal (LRC (mm) de los individuos, con la altura de la percha (cm) utilizada para esta población de <i>Pristimantis bacchus</i> . (Rpeso=0.1, p=0.053, N=356) y (RLRC=0.04, p=0.488, N=356).	35
Figura 9. Representación espacial en el uso del microhábitat mediante el escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) para la población de <i>Pristimantis bacchus</i> por juveniles indeterminados (JU) rojos, machos (MA) verde y estados reproductivos en hembras, hembras juveniles (HJ) azul, hembras vitelogénicas I (HVI) café, hembras vitelogénicas II (HVII) naranja, y adultas no reproductivas (HNR) morado, con datos ambientales de temperatura (Temp) y humedad relativa (HR). Valor de stress 0.15.....	36
Figura 10. Tipo de sustrato y altura de percha utilizado para la actividad de canto por machos de <i>P. bacchus</i> . La altura de la percha está dividida por categorías 0-40 (I), 41-80 (II), 81-120 (III), 121-160 (IV), 161-200 (V) cm.....	38
Figura 11. Descripción del llamado de aviso para <i>P. bacchus</i> . a) Oscilograma. b) Frecuencia del espectrograma. En la vereda La Colorada, San Vicente de Chucurí, Santander.	41

Lista de Tablas

	Pag.
Tabla 1. Resultados obtenidos de las pruebas de Chi-cuadrado para la utilización del microhábitat (sustrato y altura de la percha) por categoría de edad y condición reproductiva en hembras, para la población de <i>P. bacchus</i> . p significativo <0.05.	33

Tabla 2. Valores de significancia ($p < 0.05$) para la comparación entre pares por ANOSIM en la utilización de microhábitat para individuos de <i>P. bacchus</i> , entre sexos, categorías de edad y condición reproductiva en hembras, durante los periodos de lluvia (valores por encima de la línea) y periodos de sequía (valores por debajo de la línea). Machos (MA), juveniles indeterminados (JU), hembras juveniles (HJ), hembra vitelogénica I (HVI), hembra vitelogénica II (HVII) y hembra adulta no reproductiva (HNR).	37
Tabla 3. Resultados obtenidos para la prueba de U Mann-Whitney para las variables estructurales y ambientales de las perchas donde hubo presencia/ausencia de machos cantores, con valores media \pm desviación estándar. p significativo < 0.05	39
Tabla 4. Resultados de la regresión logística para los dos modelos evaluados mediante el criterio de información de AICc. Donde k es el número de parámetros libres en el modelo, $\Delta AICc$ es la diferencia entre el valor de AICc del segundo modelo y el valor AICc del mejor modelo, w_i es el peso de Akaike de los modelos, y cw es el peso acumulado.	40

Resumen

Título: Uso de microhábitat y sitios de vocalización de la rana *Pristimantis bacchus* (Anura: Craugastoridae)*

Autor: Wilfredo Chinchilla Lemus**

Palabras Claves: Morfofisiología, Microhábitat, Vocalización, Deseccación, Dispersión.

Descripción:

Los anuros por su morfofisiología guardan estrechas relaciones con las características estructurales del hábitat que ocupan. *Pristimantis bacchus* una rana endémica de los bosques de niebla del municipio de Charalá (Santander, Colombia), carece de información que permita entender esta relación y dilucidar aspectos de su historia natural. Evaluamos la variación en el uso de microhábitat entre edades y condición reproductiva en hembras, y la selección de sitios de vocalización por machos durante las épocas de lluvia y sequía para una nueva localidad de distribución. Para ello se realizaron 14 salidas mensuales con 5 transectos fijos ubicados en un remanente de bosque. Los transectos fueron recorridos aleatoriamente, capturando los individuos y registrando datos de tamaño, sexo, condición reproductiva y características estructurales y ambientales del microhábitat utilizado. Se encontraron diferencias en el uso del microhábitat por altura de percha en cada categoría de edad, y por sustrato, sólo las hembras vitelogénicas I no variaron en la utilización. Los machos utilizan mayor variedad de sustratos a mayor elevación, mientras las hembras se encontraron principalmente en la hojarasca y sobre hojas a bajas alturas. Asimismo, los juveniles se hallaron en menor número de sustratos, y a menor altura que los adultos. Las hembras grávidas ocuparon mayor número de sustratos y fueron las únicas encontradas a más de 120 cm. Para la percha de canto se evaluaron dos modelos de selección basados en aspectos fisiológicos de requerimientos de humedad y reproductivos por dispersión del sonido, los machos prefieren vocalizar sobre perchas a alturas entre 41-120 cm y con estructuras vegetales que mantengan porcentajes altos de humedad evitando desecación, además de disminuir la exposición a los depredadores. *P. bacchus* presenta diferencias intrapoblacionales en el uso de microhábitat por altura de percha y sustrato, relacionadas con las estrategias reproductivas y los requerimientos microambientales particulares.

* Trabajo de grado

** Facultad de Ciencias Básicas. Escuela de Biología. Directora: Martha Patricia Ramírez Pinilla, Doctora en Ciencias Biológicas con Orientación en Zoología.

Abstract

Title: Microhabitat use and calling-sites of *pristimantis bacchus* (anura: craugastoridae)*

Author: Wilfredo Chinchilla Lemus**

Keywords: Morphophysiology, Microhabitat, Vocalization, Desiccation, Dispersion.

Description:

Anurans by their morphophysiology are closely related to the structural characteristics of the habitat they occupy; this relationship is difficult to understand in *Pristimantis bacchus* an uncommon land frog, endemic of the cloud forests of Charalá municipality (Santander, Colombia) because of the absence of information, which does not allow to elucidate aspects of its natural history. We evaluate the variation of microhabitat use between ages and reproductive condition in females, and the calling sites selection for males during wet and dry seasons for a new distribution location for this species. We made 14 monthly field trips with five fixed transects located on a remnant of a cloud forest. The transects were randomly sampled, collecting individuals and recording data of size, sex, reproductive condition and structural and environmental characteristics of microhabitat used by each individual. We found differences in microhabitat use by perch height and by substrate, only vitellogenic I females did not vary in the use of microhabitat. Males used the most variety of substrates at highest elevations, while females were mainly found in the leaf litter and on leaf at low elevations. Additionally, juveniles were found in less number of substrates and at lower elevations than adults. Vitellogenic females occupied more number of substrates and they were the only ones found at more than 120 cm. In terms of calling sites, we evaluate two selection models that were based on physiological aspects like humidity and reproductive requirements for sound dispersion; males prefer to call on perch with heights between 41-120 cm, with vegetation structure that maintain high humidity rates and avoid desiccation and predators. Intrapopulation differences in the use of microhabitat related with perch height and substrate were observed in the studied population of *P. bacchus* and these differences were related to the reproductive condition and particular microenvironmental features.

* Project of grade

** Faculty of Basic Sciences. School of Biology. Director: Martha Patricia Ramírez Pinilla, PhD in Biological Sciences with Orientation in Zoology.

Introducción

El género *Pristimantis* contiene 510 especies de ranas de desarrollo directo y es el más diverso del Neotrópico (Frost, 2017). El conocimiento sobre la biología de la mayoría de especies del género *Pristimantis* es mínimo, aunque existen trabajos con datos valiosos sobre la historia natural, enmarcados en las descripciones de las especies. Sin embargo, trabajos específicos que determinen los factores ambientales asociados a la utilización de microhábitats por las especies y para la selección de sitios de canto no existen a nuestro conocimiento.

Pristimantis bacchus (Lynch, 1984), es una especie endémica de los bosques de niebla de la Cordillera Oriental de Colombia, habita principalmente la vegetación del sotobosque y puede llegar a tolerar cierto grado de perturbación, encontrándose en los bordes de bosque o asociadas a los pastizales en la vegetación arbustiva (Castro et al., 2004, UICN 2017). *P. bacchus* es considerada como una especie en peligro de extinción en la lista roja de especies amenazadas del IUCN, en la categoría EN B1ab(iii), criterio dado hace 12 años porque 1) su área de distribución es menor a 5,000 km², 2) sus poblaciones se encuentran establecidas en menos de cinco localidades, 3) hay una disminución en la calidad de su hábitat (Castro et al., 2004, UICN 2017). Sin embargo, no se conoce su historia natural, biología básica, distribución potencial, ecología poblacional y estado de conservación actual.

Dado que una de las principales causas de decline poblacional en esta especie es la degradación de su hábitat, en este trabajo se identificaron los microhábitats utilizados por *P. bacchus*, teniendo en cuenta variables categóricas de edad por tamaño corporal (juveniles,

adultos machos y adultos hembras) y condición reproductiva para hembras, durante las temporadas de lluvia y sequía. Se pretendió determinar si existe variación en la utilización del microhábitat, y si los microhábitats seleccionados se ven influenciados por los cambios estacionales determinados por la precipitación presente en la zona.

Debido a que las especies de desarrollo directo se ven influenciadas en su actividad por las lluvias (Alonso et al., 2001), se identificaron los sitios de preferencia para el canto en los periodos de mayor actividad de canto y durante la época de mayor precipitación para los machos de *P. bacchus*. Asimismo, se determinaron las características ambientales y estructurales del hábitat que pueden influir en la selección de estos sitios. Estas características del hábitat pueden minimizar la interferencia acústica, brindando un óptimo despliegue del canto (Drewry & Rand, 1983; Townsend, 1989; Bosch & De la Riva, 2004), o permiten evitar la desecación de los individuos, al mantener porcentajes ideales de humedad (Cáceres-Andrade & Urbina-Cardona, 2009). Con este trabajo se relaciona la presencia de los individuos en sus microhábitats con las condiciones abióticas y bióticas particulares y de esta forma se aportan herramientas para entender el grado de plasticidad de la especie y su respuesta a gradientes de perturbación antropogénica (Urbina-Cardona & Pérez-Torres 2002; Cáceres-Andrade & Urbina-Cardona, 2009), que generen futuras pautas para la conservación de la especie.

1. Marco Teórico

1.1. Uso de microhábitat

Los anuros guardan una estrecha relación con las variables ambientales y estructurales del hábitat. Su distribución espacial está dada por la interacción entre requerimientos fisiológicos del organismo y características físicas del hábitat (Angulo et al., 2006; Cáceres-Andrade & Urbina-Cardona, 2009). Se encuentran preferiblemente en sitios o microhábitats con temperaturas bajas y estables, que les brindan recursos para una óptima reproducción, termorregulación, alimentación y rutas de escape (Urbina-Cardona & Pérez-Torres, 2002; Urbina-Cardona et al., 2006). La utilización de los microhábitats en anuros varía también con su tamaño corporal. Para algunas ranas, las especies de tamaño corporal pequeño ocupan una serie de microhábitats diferentes a los utilizados por especies más grandes (Lynch & Duellman, 1997; Doan, 2004; Muñoz-Guerrero et al., 2007; Arroyo et al., 2008).

El uso de microhábitats está ligado a la disponibilidad de microhábitats y a la tolerancia de las especies a características ambientales del microhábitat, encontrándose especies generalistas y otras dependientes de sitios específicos (Urbina-Cardona & Pérez-Torres, 2002; Gutiérrez-Lamus et al., 2004). La disponibilidad de microhábitats está dada por la heterogeneidad vegetal del hábitat, la cual influye en la distribución, abundancia y diversidad de las especies, brindando características óptimas para la supervivencia, que ayudan a reducir la desecación tanto de los individuos, como de sus posturas, y aumentan la capacidad de albergar un mayor número de

especies (Ponssa, 2004; Blair & Doan, 2009; Cáceres-Andrade & Urbina-Cardona, 2009). Al ocurrir cambios ambientales dentro de los microhábitats, las especies de anuros generan respuestas que van ligadas a su plasticidad fisiológica y rasgos fundamentales (Oliveira & Eterovick, 2010).

Höbel (1999) encontró que para machos de *Eleutherodactylus fitzingeri* no existen diferencias en la altura de la percha entre machos activos que cantan y no cantan y entre los periodos de lluvia y sequía. Para especies de *Pristimantis* se ha observado que la utilización de la altura de la percha varía dependiendo del tamaño corporal y estado de madurez de los individuos de manera que los adultos ocupan microhábitats a una mayor altura en la vegetación para la alimentación y encuentros reproductivos, mientras que los juveniles prefieren permanecer ocultos en la hojarasca, para protegerse de los depredadores potenciales (Blair & Doan, 2009). De igual forma, se ha observado variación en la altura de la percha entre sexos, los machos de *Pristimantis* exhiben alturas de percha mayores a las de las hembras (Blair & Doan, 2009). Asimismo, a nivel interespecífico, algunas especies de terraranas pueden repartir su espectro de microhábitats verticales, al ocupar diferentes alturas durante la noche, permitiéndoles convivir al usar diferente disponibilidad de recursos (Alonso et al., 2001; Blair & Doan, 2009). Esta repartición vertical no fue observada en una comunidad de *Pristimantis* en la Cordillera Oriental santandereana, ya que las especies no difieren en uso de microhábitat (Arroyo et al., 2008).

1.2. Sitios de preferencia para el canto en anuros

La selección de sitios de canto por parte de anuros está relacionada con la fisiología y estrategias reproductivas de las especies. Los machos escogen microhábitats ideales que brinden las mejores condiciones para la reproducción (Duellman & Trueb, 1986; Bosh & De la Riva, 2004; Akmentins et al., 2014). Dichas condiciones pueden ir enmarcadas en sitios con características estructurales que permitan óptimos despliegues de canto, y ofrezcan reducciones en los efectos de interferencia acústica, aumentando la propagación y recepción de las vocalizaciones (Ziegler et al., 2011; Goutte et al., 2013). Una estrategia utilizada por machos de anuros a la hora del canto, es seleccionar sitios con ciertas distancias específicas entre individuos para reducir la interferencia del llamado, interacciones territoriales y facilitar los encuentros reproductivos (Nali & Prado, 2012; Dias et al., 2014).

En especies de anuros terrestres, cambios estacionales en el clima hacen que la tasa de pérdida de agua por evaporación afecte diaria y estacionalmente los patrones de actividad; asimismo, la temperatura juega un papel importante en la limitación de actividades reproductivas como la vocalización de los machos, que son fuertemente influenciados por la humedad y los periodos de lluvia (Navas, 1996; Akmentins et al., 2014). Los cambios ambientales en la temperatura del aire, humedad, velocidad del viento y densidad de la vegetación, pueden llegar a afectar la propagación de las vocalizaciones, degradando la eficacia de la señal, haciéndola irreconocible para el receptor (Drewry & Rand, 1983; Bosh & De la Riva, 2004).

Un comportamiento encontrado para especies del género *Eleutherodactylus*, es escoger sitios elevados sobre el suelo, que permitan minimizar efectos de interferencia en la propagación del

llamado que genera la vegetación baja y el suelo (Alonso et al., 2011). Dividir espacialmente los sitios de vocalización es una estrategia usada por machos de *Eleutherodactylus* para evitar interferencias, unas especies vocalizan desde sitios más cercanos al sotobosque (menos de 3 metros) y otras más cercanas al dosel (Villanueva-Rivera, 2014). Los machos de *Eleutherodactylus* producen llamados omnidireccionales desde perchas altas que permiten un óptimo despliegue del canto. Realizar vocalizaciones desde el suelo daría lugar a la atenuación excesiva o direccionalidad de las vocalizaciones, que reducirían la capacidad de atraer hembras o alejar machos rivales, afectando el éxito reproductivo (Townsend, 1989).

La presencia de depredadores influye en la selección de perchas para el canto (Drewry & Rand, 1983). El uso de las perchas con gran cantidad de cobertura vegetal puede ser una estrategia ideal para evitar a los depredadores que son atraídos por los cantos realizados por los machos (Höbel, 1999). Pero esta estrategia no ayuda en la propagación de la vocalización al generar gran cantidad de interferencia acústica (Townsend, 1989). Como las vocalizaciones son un comportamiento que hace a los machos vulnerables a los depredadores (Höbel & Bartra, 2014), la elección de los sitios de canto se debate entre el éxito reproductivo y la supervivencia de las especies (Höbel, 1999; Solano et al., 2015).

1.3. *Pristimantis Bacchus*

Pristimantis es el género de ranas terrestres más diverso del Neotrópico con un total de 505 especies distribuidas desde el este de Honduras en Centro América, pasando por Suramérica hasta el norte de Argentina, incluyendo las Antillas menores, Trinidad y Tobago, y Granada (Frost, 2017; Hedges et al., 2008). Las especies de este género se caracterizan por presentar un

desarrollo directo, con exclusión del estado acuático de renacuajo. Depositán sus huevos en microhábitats terrestres y dentro de estos se desarrolla un individuo miniatura del adulto, convirtiéndolas en especies independientes de fuentes hídricas, característica que les permite ampliar su rango de distribución (Duellman & Lehr, 2009; Heinicke et al., 2009; Vargas-Salinas & Castro-Herrera, 1999). Para Colombia, *Pristimantis* es el género de anuros más representativo con 218 especies (Frost, 2017), distribuidas mayoritariamente en las Cordilleras de los Andes, las cuales exhiben características variables que condicionan su diversidad y endemidad, presentando diferencias entre los porcentajes de diversidad (altos en las cordilleras Occidental y Central) y endemidad (mayor en la Cordillera Oriental (84%) (Lynch et al., 1997).

Dentro de la Cordillera Oriental encontramos a *Pristimantis bacchus*, una especie perteneciente al grupo *unistrigatus*, con distribución restringida a los bosques de niebla del departamento de Santander hacia los municipios de Charalá y San Vicente de Chucurí, a elevaciones que van desde los 1373-2300 metros (Lynch, 1984; Chinchilla-Lemus & Meneses-Pelayo, 2016). *P. bacchus* puede llegar a tolerar cierto nivel de perturbación, pero no la degradación total de su hábitat, encontrándose asociada a los bordes de bosque (Castro et al., 2004). Debido a su distribución geográfica limitada, *P. bacchus* es considerada como una especie rara y poco abundante, con posibles requerimientos específicos de microhábitat que lo limitan a ciertos hábitats específicos (Gutiérrez-Lamus et al., 2004).

2. Materiales y Métodos

2.1. Área de estudio

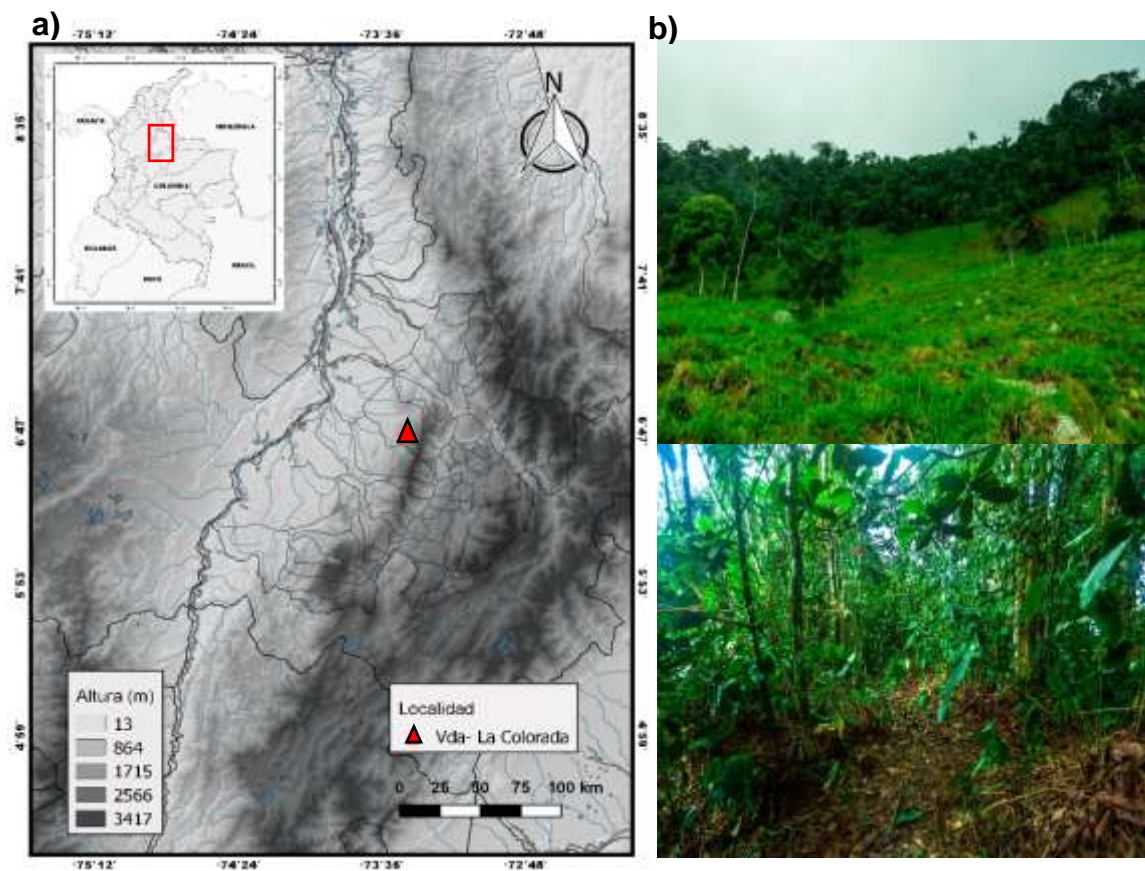


Figura 1. Área de distribución de *Pristimantis bacchus* en la Vereda La Colorada, municipio de San Vicente del Chucurí, departamento de Santander, Colombia. a) Mapa de distribución en el área de estudio. b) Fotografía del relicto de bosque de estudio localizado en la finca El Diviso, Santander a 1480 msnm.

Fuente. El datum utilizado para las coordenadas geográficas es WGS84 (Elaborado por Wilfredo Chinchilla-Lemus).

El área de estudio se localiza en el flanco occidental de la Cordillera Oriental de los Andes, en las estribaciones del Parque Nacional Natural Serranía de los Yariguíes, finca El Diviso, vereda La Colorada, municipio de San Vicente de Chucurí, Santander, Colombia (6° 47' 33.36" N, 73° 28' 46.919" W) (Figura 1). Esta área cuenta con elevaciones que van desde los 1200 a 1480 metros, caracterizadas por altas precipitaciones (precipitación anual de 1928 mm) y por la incidencia de neblinas provenientes del Río Magdalena que cubren todo el bosque. Registra un régimen de precipitación bimodal, con dos periodos de lluvia que van de abril a junio y de agosto a noviembre (Hijmans et al., 2005). Se pueden encontrar sistemas agroforestales aledaños al bosque como cultivos de cacao (*Theobroma cacao*), café (*Coffea arabica*) y cítricos (*Citrus* sp.), potreros para el desarrollo de la ganadería extensiva y zonas para la tala selectiva, que han afectado gran parte del bosque nativo de esta área (Donegan et al., 2010).

En la finca El Diviso, se observa un remanente de bosque con un área total de 15 hectáreas, rodeado por dos potreros activos que le generan un efecto de borde (Figura 1). El área se caracteriza según el sistema de Holdridge (1967) como un bosque húmedo premontano bh-PM con árboles de hasta 30 m de altura que mantienen porcentajes altos de cobertura dosel, con un sotobosque que presenta vegetación dominada principalmente por especies amenazadas de la familia Marantaceae como *Calathea cf. anulque* H. Kenn, además de especies de las familias Melastomataceae, Arecaceae y Heliconiaceae, junto con helechos terrestres y arborescentes. Cerca al remanente de bosque se pueden apreciar parches de bosque ubicados a aproximadamente 400 m de distancia, los cuales se encuentran separados del área de estudio por los potreros anteriormente mencionados. Este estudio se llevó a cabo en esta zona boscosa, a 1400 metros de elevación, debido a que los individuos de *Pristimantis bacchus* se encontraron sólo en el bosque.

2.2. Muestreo

La obtención de datos se realizó por medio del muestreo por transectos. Se delimitaron 5 transectos fijos de 100 metros de largo x 4 metros de ancho (2 metros a cada lado) (Heyer et al., 1994), separados cada uno por 3 metros de distancia debido a la disponibilidad del terreno. Los transectos fueron recorridos de manera aleatoria por 2 personas, mensualmente durante 3 días (3 noches efectivas de muestreo), con una intensidad de 10 horas diarias nocturnas (1 hora/transecto), iniciando a partir de las 19 h, en un periodo de 14 meses de muestreo (enero-diciembre 2015 y abril-mayo 2016). Los transectos se encontraron distribuidos a lo largo del relicto de bosque, de los cuales 3 transectos se ubicaron aledaños al borde, 1 paralelo y 2 perpendiculares (2 metros distanciado del borde), y los dos restantes hacia el interior del bosque (120 m del borde). Dichos transectos fueron identificados realizando caracterizaciones vegetales, las cuales permiten conocer la composición vegetal y cómo varía al hacer contacto con áreas de sucesión o abiertas. Asimismo, esto permitió estimar la disponibilidad de microhábitats presentes en el área. Sobre cada transecto se capturaron mensualmente todos los individuos observados por medio de encuentros visuales, y vocalizaciones para ubicar los machos. Las ranas fueron depositadas en cajas plásticas transparentes o bolsas Ziploc®. A cada individuo se le tomaron los datos requeridos de microhábitat, hora de actividad, peso, longitud rostro-cloacal, sexo y condición reproductiva. Además, con el fin de evitar el sobre-muestreo de individuos y no caer en las réplicas, los individuos adultos y juveniles capturados fueron marcados mediante amputación de falanges sujetándolos con guantes quirúrgicos y usando tijeras de disección previamente esterilizadas con alcohol y fuego. Se usó la metodología de marcaje planteada por Hero (1898), la cual por su código no permite remover más de dos

falanges por extremidad. Posterior al marcado, a las zonas amputadas se les agregó una solución de Yodopovidona para evitar infecciones, y después se liberaron los individuos en los mismos sitios de captura.

2.3. Toma de datos

Los individuos capturados fueron pesados y medidos, mediante una balanza (Pesola® MS500, precisión 0.1 g) y un calibrador de 0,01 mm de precisión. Los individuos se categorizaron como juveniles de sexo indeterminado, hembras juveniles, machos y hembras adultas. Estas categorías se determinaron por la observación de características reproductivas indicadoras de sexo y madurez sexual. En los machos adultos por la presencia de canto y coloración del saco vocal; en las hembras fueron consideradas adultas todas aquellas con un tamaño corporal mayor al de la hembra más pequeña que presentó folículos vitelogénicos evidentes a simple vista (Figura 2). Asimismo, los individuos que no presentaron características reproductivas, fueron incluidos siguiendo las medidas de tamaño corporal reportadas por Lynch (1984) para la descripción de la especie. Hembras adultas (Longitud rostro cloaca LRC >32 mm), machos adultos (LRC 20-29.4) y juveniles (LRC ≤19.9).

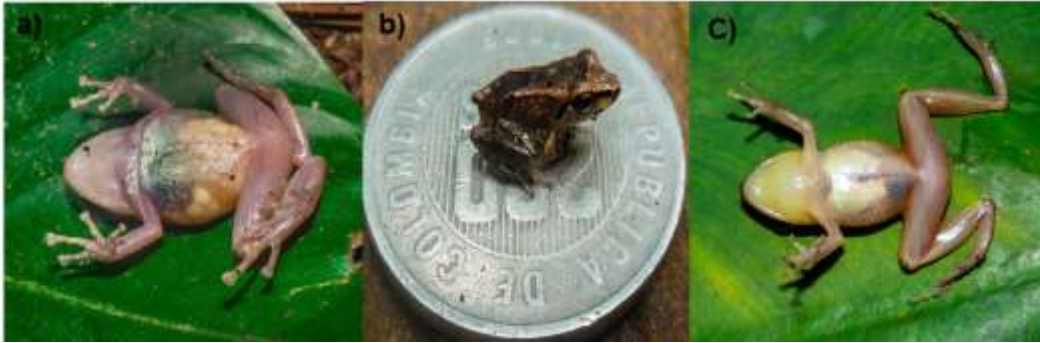


Figura 2. Categoría de edad para individuos de *P. bacchus* con características reproductivas. a) Hembra con presencia de folículos vitelogénicos. b) Juvenil. c) Macho con coloración de saco vocal.

Además, a las hembras capturadas se les determinó la condición reproductiva, la cual se definió por la presencia o ausencia de folículos vitelogénicos observados visiblemente gracias a la ligera transparencia de la zona abdominal. Se clasificaron así: hembras juveniles, hembras previtelogénicas de tamaño corporal inferior a la hembra madura más pequeña, sin presencia de folículos vitelogénicos; hembras vitelogénicas I, hembras con folículos vitelogénicos pequeños; hembras vitelogénicas II o grávidas, hembras con gran cantidad de folículos yemados grandes que cubren la región abdominal; hembras adultas no reproductivas, hembras con LRC por encima del tamaño mínimo de madurez sexual y con ausencia de folículos vitelogénicos.

2.3.1. Caracterización del uso de microhábitat. A cada individuo capturado dentro del transecto se le registraron datos de microhábitat, siguiendo lo planteado por García et al. (2005), fecha de captura, transecto evaluado, posición vertical o altura de la percha (las cuales fueron divididas en los siguientes intervalos: I = 0-40 cm, II = 41-80 cm, III = 81-120 cm, IV = 121-160 cm, V = 161-200 cm), tipo de sustrato sobre el que se encontró [hoja (Ho), tallo (Ta), hojarasca (Hj), raíz (Ra), y tronco (Tr)]. La posición horizontal no fue registrada debido a que no hay presencia de una fuente hídrica cercana a los transectos evaluados. Lo anterior se hizo con el

fin de identificar qué variantes de microhábitats utiliza cada individuo de la especie durante todo el periodo de muestreo.

2.3.2. Identificación sitios de canto. La identificación de sitios de canto seleccionados por machos de *P. bacchus*, y la caracterización de los microhábitats de canto y sus características ambientales y estructurales se llevaron a cabo en los meses de mayor precipitación y presuponen el pico de mayor vocalización. En este periodo se buscaron los machos cantores por el método de encuentros visuales (VES) dentro de los transectos establecidos. A cada macho observado en actividad de canto se le registraron datos de peso y longitud rostro-cloaca, temperatura corporal y temperatura del sustrato ocupado, por medio de un termómetro (RadioShack® IR THERMOMETER). Asimismo, se registró la temperatura ambiental con la ayuda de la estación meteorológica portátil Kestrel® 2500 y los datos de sustrato y altura de la percha. Los microhábitats utilizados por los machos para el canto fueron marcados con cinta flagging y analizados al día siguiente con el fin de tomar datos estructurales del hábitat. Los datos estructurales fueron número de árboles y arbustos (cuantificados en un radio de 2 metros desde el sitio de canto), heterogeneidad de los estratos vegetales por encima de la rana (número de capas, mediante una vara de 2 metros de largo, marcada cada 20 cm con cinta de enmascarar y contando el número de contactos de la vegetación con la vara), cantidad de hojarasca (por medio de un cuadrante de 50x50 cm recogiendo manualmente toda la hojarasca presente y pesándola con una Pesola de 1000 g), cobertura de dosel (mediante fotografías tomadas con una cámara y un lente ojo de pez, determinada por el software Gap Light Analyzer 2.0 (GLA, Frazer et al., 1999), y por último, se midió el área foliar de cada sustrato herbáceo empleado por el macho, calculado mediante el software Gap Light Analyzer 2.0 (GLA). Se escogió un sitio aleatorio

dentro del bosque, distanciado 4 metros de donde estuvo vocalizando un macho y se midieron las mismas características para aquellos sitios en donde no había presencia de machos vocalizando, con el fin de compararlos. Asimismo, con el fin de caracterizar el llamado de aviso utilizado por *P. bacchus*, se registraron las vocalizaciones de machos de esta especie con una grabadora Zoom H1 V2.0, con datos de temperatura ambiental, peso y LRC.

2.4. Análisis de datos

2.4.1. Estructura etaria. Para observar la estructura etaria de la población se realizaron diferentes pruebas de chi-cuadrado (X^2) con el fin de observar variaciones en la ocurrencia de los individuos durante los meses, una prueba binomial para evaluar la proporción sexual y comparar las frecuencias observadas para machos y hembras, y una prueba de U Mann-Whitney para observar si existe dimorfismo sexual entre individuos adultos por tamaño y peso. Además, se evaluó si existe relación entre la cantidad de individuos capturados y la temperatura y humedad del sitio mediante una correlación de Spearman. Con los datos de tamaño corporal obtenidos para cada individuo y su condición reproductiva, se determinó el tamaño mínimo de madurez sexual, correspondiente al individuo más pequeño que presentó características de actividad reproductiva, y se incluyeron datos de los rangos de LRC y peso observados para la población (número de individuos, media \pm desviación estándar).

El análisis se realizó en el software PAST versión 3 (Hammer et al., 2001) y STATISTICA versión 7.0 (StatSoft, Inc. 2004). Para todos los análisis estadísticos se estableció el valor de significancia de P en 0.05.

2.4.2. Uso de microhábitat. Se realizó un escalamiento multidimensional no métrico (nMDS) para visualizar los patrones estructurales de la población en cuanto a la utilización del microhábitat durante los periodos de lluvia y sequía, el nDMS está basado en una matriz de similitud de Jaccard, usando datos de presencia-ausencia de la especie. Así mismo se realizó un análisis de similitud (ANOSIM) para detectar la diferencia entre el uso de los microhábitats y las categorías de individuos de la especie. El análisis se realizó usando el paquete Vegan (Oksanen et al., 2017) en el software R versión 3.3.2. (R Development Core Team, 2011)

Para caracterizar los microhábitats utilizados por las distintas categorías de individuos de *Pristimantis bacchus* se elaboraron tablas de contingencia en donde se consignaron el número de individuos encontrados en los microhábitats presentes en el área para las variables de sustrato y posición vertical (altura de la percha). Con estas tablas se realizaron pruebas de chi-cuadrado de bondad de ajuste (X^2), con el fin de determinar si el uso de los microhábitats por *P. bacchus* es diferente a nivel de sustrato y estratos para sexos, categorías de edades, y condiciones reproductivas para hembras, y en los periodos de lluvia y sequía. El análisis se realizó en el software PAST versión 3 (Hammer et al., 2001).

2.4.3. Sitios de preferencia para el canto. Con las variables definidas se examinó si existen diferencias significativas en la estructura vegetal de los sitios usados y no usados para el canto por machos de *P. bacchus* mediante una prueba de U Mann Whitney. Luego se generaron modelos para determinar las características ambientales y estructurales del hábitat asociadas con la selección de los machos como sitios de percha para cantar. El primer modelo (Modelo I), está basado en los requerimientos ambientales brindados por los microhábitats para evitar la deshidratación de los individuos. Dentro de este modelo se incluyen las variables de cobertura

de dosel, hojarasca, área foliar, humedad relativa, temperatura ambiental, corporal y del sustrato. Se tomaron estas variables debido a la dependencia que presentan las ranas terrestres de la humedad y lo ligadas que están a sitios que le permitan una protección a la deshidratación (Urbina-Cardona et al., 2006; McCallum et al., 2006; Martin et al., 2011). Por otra parte, el segundo modelo, (Modelo II), se basó en la preferencia de perchas por parte de los machos, dependiendo de las características estructurales de la vegetación presentes alrededor de los microhábitats donde se encontraron. Dentro de este modelo se incluyen las variables de número de capas, número de árboles y número de arbustos, y velocidad del viento. Estas variables se tomaron, teniendo en cuenta las características estructurales y ambientales del hábitat que permiten un óptimo despliegue del canto (Wells & Schwartz 1982; Townsend, 1989; Alonso et al., 2001; Solano et al., 2015). Variables con fuerte correlación (rango correlación de Spearman $\geq 0,7$) no fueron incluidas en el mismo modelo. Estos modelos fueron evaluados mediante un análisis de regresión logística (Keating & Cherry, 2004), utilizando modelos Logit binomiales para datos binarios que relacionen la presencia/ausencia de los machos vocalizando con las variables predictoras más importantes del hábitat. Se usó el criterio de información de Akaike corregido para pequeños tamaños de muestra (AICc), para determinar cuál modelo es el predictor más fuerte a la hora de escoger los sitios de canto. El modelo que presentó el valor de AICc bajo, se consideró como el mejor apoyo para los datos (Mazerolle, 2006). Para seleccionar el mejor modelo se compararon los dos modelos ($\Delta AICc \leq 2$). El análisis se realizó usando el paquete AICcmodavg (Mazerolle, 2016) en el software R versión 3.3.2. (R Development Core Team, 2011)

La caracterización del canto se realizó en el programa Raven Pro 1.4 (Bioacoustics Research Program, 2011), el cual permitió observar la amplitud y frecuencia del canto, mediante la elaboración de oscilogramas y espectrogramas.

3. Resultados

3.1. Estructura etaria y tiempos de actividad.

Durante el muestreo se capturaron un total de 356 individuos de *Pristimantis bacchus*, representados por 229 machos (64%), 66 hembras adultas (19%), 49 hembras juveniles (14%) y 12 juveniles indeterminados (3%). De acuerdo con las características de coloración en el saco vocal y presencia de canto, el tamaño mínimo de madurez sexual para machos es 20 mm y por la presencia de huevos abdominales, el de las hembras es de 29 mm (Figura 3). El rango de tamaños (LRC) de los machos adultos es de 20-30.3 mm ($n=229$, 26.05 ± 1.88), hembras adultas 29-41.5 mm ($n=66$, 34.70 ± 2.94), hembras juveniles 20-28.7 mm ($n=49$, 24.13 ± 2.59) y juveniles de sexo indeterminado 15-19.35 mm ($n=12$, 17.18 ± 1.34). El rango de peso para machos adultos es de 0.4-2.2 g ($n=229$, 1.35 ± 0.31), hembras adultas 1.4-5.5 g ($n=66$, 3.57 ± 0.94), hembras juveniles 0.4-2.1 g ($n=49$, 1.11 ± 0.39) y juveniles de sexo indeterminado 0.2-0.6 g ($n=12$, 0.39 ± 0.13). Los juveniles de sexo indeterminado fueron categorizados de esta forma debido a la ausencia de caracteres evidentes de dimorfismo sexual que permitan distinguir los sexos.

Los individuos adultos de *P. bacchus* presentaron dimorfismo sexual por peso y longitud rostro-cloacal (LRC) ($U_{\text{peso}}=134.5$, $p=0.001$; $U_{\text{LRC}}=262.5$, $p=0.001$).

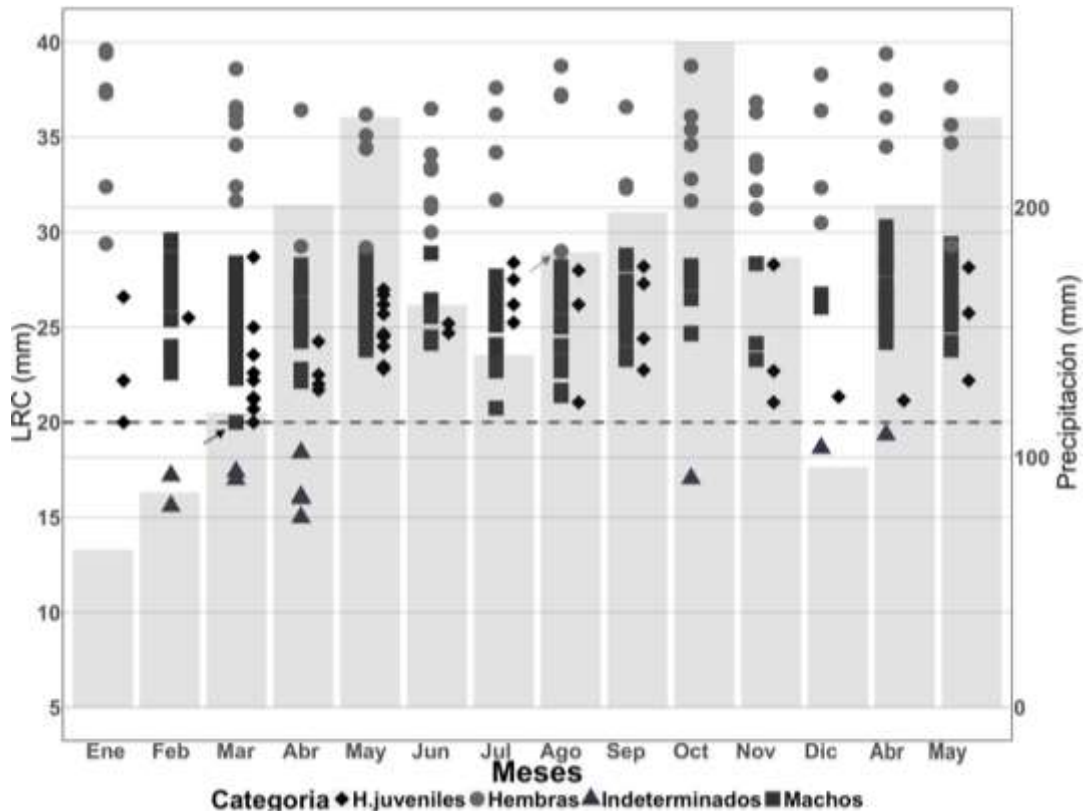


Figura 3. Distribución mensual y tamaños LRC (mm) de individuos de *Pristimantis bacchus*. Machos (cuadrados), hembras (círculos), hembras juveniles (rombos) y juveniles indeterminados (triángulos). Las flechas indican el tamaño mínimo de madurez sexual para cada sexo, machos (negra) y hembra (gris). Líneas punteadas divide los individuos de sexo indeterminado de los demás individuos. Barras grises de fondo hacen referencia a la precipitación promedio histórica.

Durante todo el muestreo los machos fueron significativamente más abundantes que las hembras (Prueba binomial, proporción 0.5, $p < 0.001$; proporción de sexos 2:1), y los individuos juveniles fueron observados y capturados durante todos los meses (Figura 3). En la ocurrencia de los individuos por mes, sólo existieron diferencias significativas para machos ($X^2=158.7$; $p < 0.001$, $gl=11$, $N=229$) y juveniles ($G=39.6$, $p=0.001$, $gl=11$, $N=62$). Del total de

hembras capturadas el 43% fueron juveniles, 7% vitelogénicas I, 15% vitelogénicas II y 35% adultas no reproductivas. Se observaron diferencias significativas en el porcentaje de hembras para cada categoría reproductiva durante todo el año ($X^2=35.52$, $p < 0.001$, $gl= 3$). Hembras juveniles y adultas no reproductivas se observaron en casi todos los meses de muestreo, y las hembras vitelogénicas I y II fueron observadas en pocos meses, pero repartidas tanto en meses lluviosos como en secos. Las hembras reproductivas se reportaron entre los meses de marzo-agosto, con los porcentajes más altos para los meses de junio 2015 y abril 2016 (Figura 4). Además, se observaron seis amplexos entre los meses de marzo-agosto, ubicados en todos los casos sobre hojas a alturas por encima de los 80 cm hasta los 2 m (Figura 5), y una hembra cuidando su postura bajo la hojarasca en el mes de mayo del 2015.

Adicionalmente, se determinó que la actividad reproductiva de los machos, establecida por su actividad de vocalización, ocurrió entre los meses de febrero-noviembre; se evidenció un cese de actividad de canto durante los meses más secos (diciembre y enero).

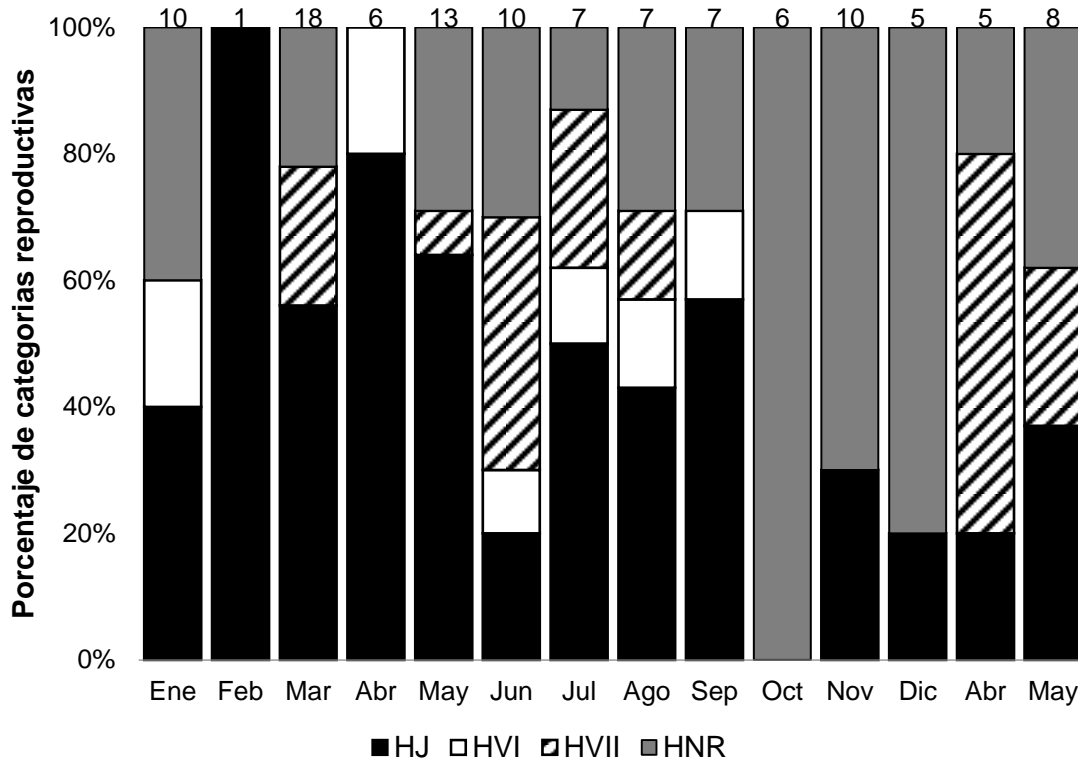


Figura 4. Distribución mensual de los estados reproductivos de las hembras en la población de *P. bacchus*. HJ: Hembras juveniles (barras negras), HVI: hembras vitelogénicas I (barras blancas), HVII: hembras vitelogénicas II (barras con líneas diagonales), y HNR: hembras adultas no reproductivas (barras grises). Los valores asignados sobre cada barra hacen referencia al n total de hembras capturadas por mes.



Figura 5. Amplexo axilar en individuos de *P. bacchus*, ubicado sobre hoja a 80 cm de la hojarasca. Se observa claramente el dimorfismo sexual marcado por tamaño (LRC) que presenta.

Los meses con mayor tasa de captura general correspondieron a la primera temporada de lluvias entre los meses de abril-mayo del año 2015 y 2016 (Figura 6). Además, el pico de captura se presentó en el mes de transición de sequía a lluvia (marzo). Durante el muestreo la temperatura ambiental (T°) fue de $16.6-27.8^{\circ}\text{C}$ ($\bar{x}21.83 \pm 1.89$) y la humedad relativa (HR) osciló entre $54.5-100\%$ (83.72 ± 10.05). No se observó una relación entre T° y HR con respecto al número total de individuos capturados ($R^2_{T^{\circ}}=-0.006$, $p=0.912$, $N=271$; $R^2_{HR}=-0.101$, $p=0.094$, $N=271$).

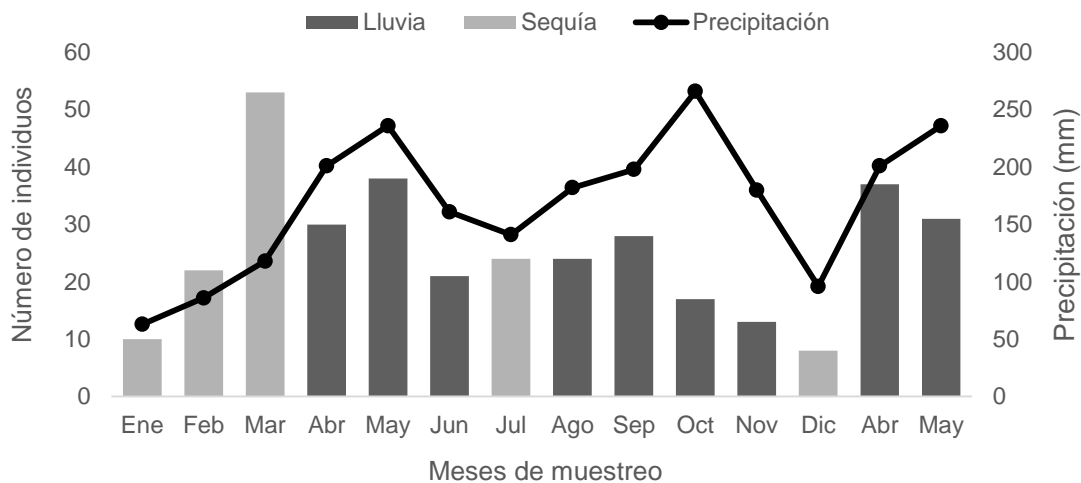


Figura 6. Variación en el número de individuos capturados durante los periodos estacionales. Lluvia (barra oscura) y sequía (barras grises), junto con la precipitación del área de estudio (línea negra punteada).

3.2. Uso de microhábitat

Los individuos de *P. bacchus* fueron observados en su totalidad ligados a la matriz de bosque principalmente sobre hojas (62%) y hojarasca (28,5%) con alturas que van desde la superficie del suelo hasta los 200 cm de altura. Se observaron diferencias significativas en el uso del

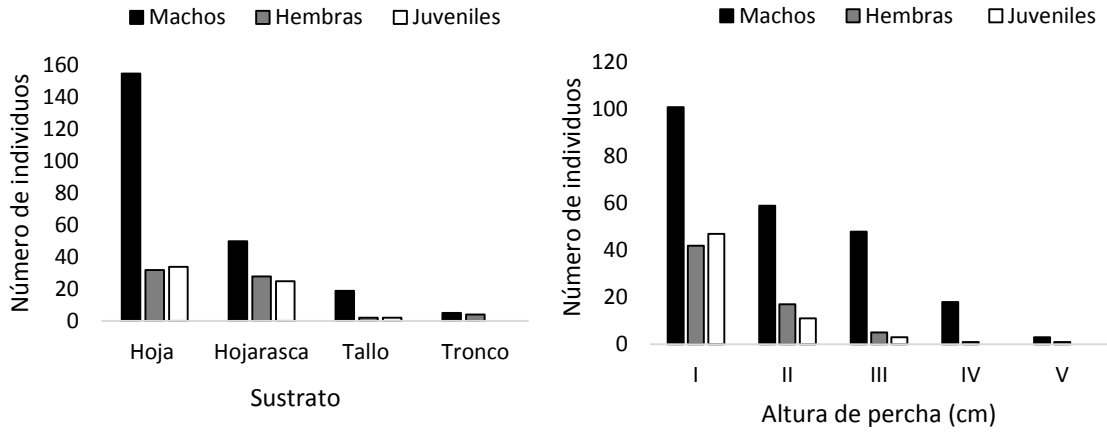
sustrato por sexo y categoría de edad; por condición reproductiva en hembras sólo las vitelogénicas I no presentaron diferencias en el microhábitat usado (Tabla 1). En cuanto a la altura o posición vertical se encontraron diferencias significativas en el uso para cada categoría de edad, sexo y condición reproductiva evaluada (Figura 7). Para los periodos de lluvia y sequía no se observaron diferencias en la altura de percha ($X^2= 8.53$, $p= 0.073$, $gl= 4$); no se encontró relación entre la altura de percha utilizada con el peso ($R=0.1$, $p=0.053$, $N=356$) y longitud de los individuos ($R=0.04$, $p=0.488$, $N=356$) (Figura 8).

Tabla 1.

Resultados obtenidos de las pruebas de Chi-cuadrado para la utilización del microhábitat (sustrato y altura de la percha) por categoría de edad y condición reproductiva en hembras, para la población de P. bacchus. p significativo <0.05.

	Sustrato			Altura de la percha		
	X ²	p	gl	X ²	P	Gl
Macho	241.06	<0.001	3	127.31	<0.001	4
Juvenil indeterminado	14.66	0.002	3	31.33	<0.001	4
Hembra juvenil	42.51	<0.001	3	99.87	<0.001	4
Hembra vitelogénica I	6	0.111	3	10.66	0.030	4
Hembra vitelogénica II	14.4	0.002	3	32	<0.001	4
Hembra adulta no reproductiva	29.4	<0.001	3	52	<0.001	4

a)



b)

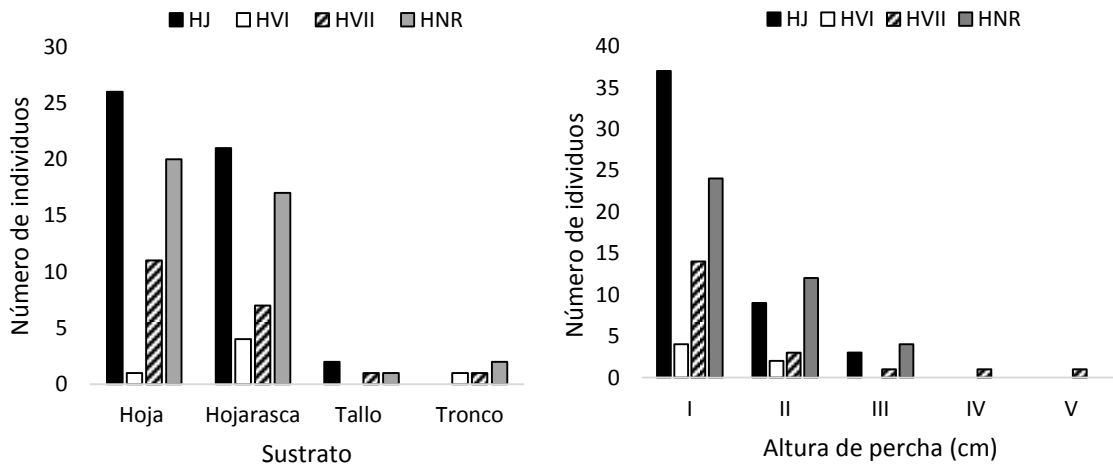


Figura 7. Microhábitats utilizados por individuos de *P. bacchus* por sexo y estructura de edad (a), y por condición reproductiva en hembras: hembras juveniles (HJ), hembras vitelogénicas I (HVI), hembras vitelogénicas II (HVII), adultas no reproductivas (HNR) (b). La altura de la percha está dividida por categorías 0-40 (I), 41-80 (II), 81-120 (III), 121-160 (IV), 161-200 (V) cm.

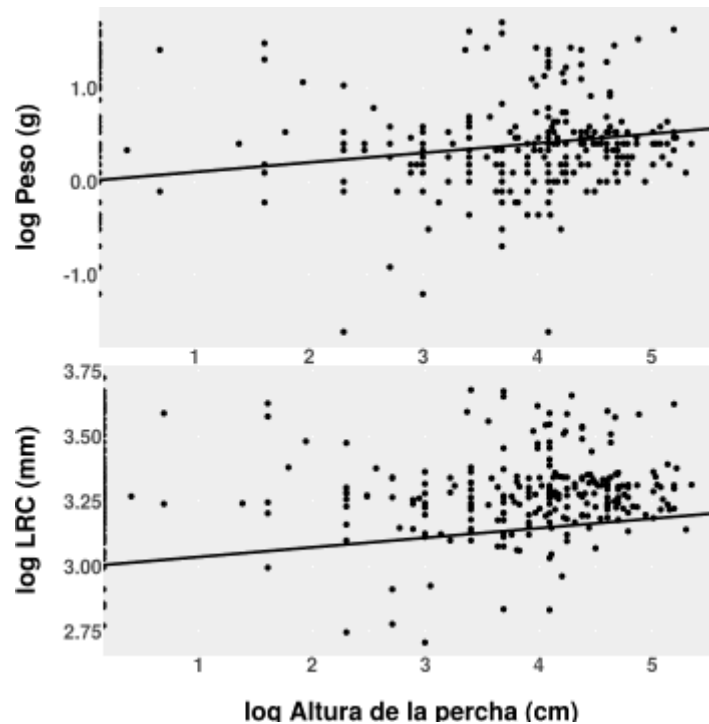


Figura 8. Relación entre el peso (g) y la longitud rostro cloacal (LRC (mm)) de los individuos, con la altura de la percha (cm) utilizada para esta población de *Pristimantis bacchus*. ($R_{\text{peso}}=0.1$, $p=0.053$, $N=356$) y ($RLRC=0.04$, $p=0.488$, $N=356$).

El escalamiento multidimensional no métrico representó espacialmente la utilización de los microhábitats para sustrato y altura de percha en esta población de *P. bacchus*, observándose que los machos utilizan mayor variedad de sustratos y alturas, encontrándose en periodos de lluvias sobre sustratos a mayor altura, mientras que en periodos secos se encontraron en microhábitats más cercanos a la hojarasca o sobre ella. Los juveniles indeterminados en todos los casos se encontraron sobre la hojarasca o en alturas por debajo de los 70 cm. Por condición reproductiva todas las hembras en periodos de sequía se ubicaron principalmente en perchas cercanas a la hojarasca o sobre esta, en periodos de lluvia las hembras juveniles y vitelogénicas I se observaron en alturas hasta los 120 cm, mientras que las vitelogénicas II ocuparon mayor número de sustratos y fueron las únicas encontradas a más de 120 cm (Figura 7). Asimismo, se

observó que la variación en el uso del microhábitat se encuentra relacionada con las condiciones ambientales del sitio (Tabla 1), a temperaturas altas los individuos tienen preferencia por microhábitats cercanos a la hojarasca, mientras que a temperaturas bajas y humedades relativas altas los individuos prefieren microhábitats más altos, mayores a 40 cm (Figura 9).

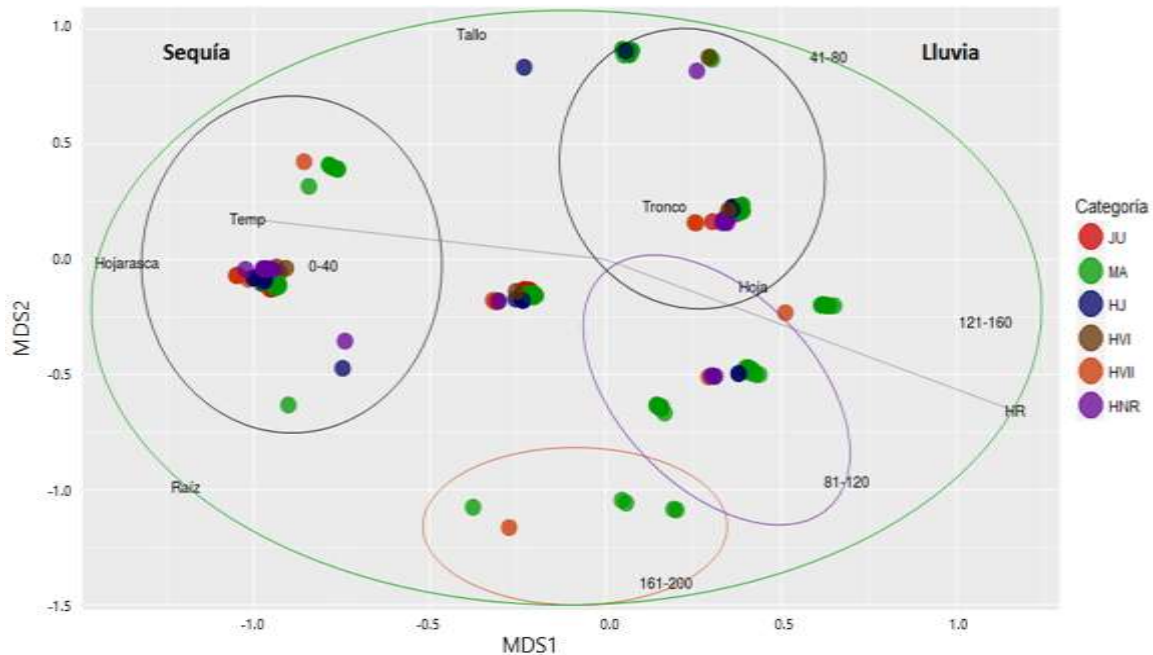


Figura 9. Representación espacial en el uso del microhábitat mediante el escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) para la población de *Pristimantis bacchus* por juveniles indeterminados (JU) rojos, machos (MA) verde y estados reproductivos en hembras, hembras juveniles (HJ) azul, hembras vitelogénicas I (HVI) café, hembras vitelogénicas II (HVII) naranja, y adultas no reproductivas (HNR) morado, con datos ambientales de temperatura (Temp) y humedad relativa (HR). Valor de stress 0.15.

El análisis global de ANOSIM mostró diferencias significativas para el uso de microhábitat en la población de *P. bacchus* (Global; $R=0.051$, $p=0.019$). Comparaciones entre pares de categorías mostraron variaciones en el uso del microhábitat marcados por los periodos estacionales en el área (Tabla 2). Las hembras varían en el uso del microhábitat entre condición reproductiva; los machos varían en el microhábitat con hembras vitelogénicas I y II; las hembras

vitelogénicas II variaron con las hembras juveniles; además las hembras juveniles tienen diferencias significativas en la utilización del microhábitat por periodo estacional ($R=0.174$, $p=0.019$). En periodos de sequía sólo se observaron diferencias entre hembras vitelogénicas I y hembras adultas no reproductivas (Tabla 2). Los resultados del SIMPER global mostraron que los porcentajes de humedad relativa (76.26%) y temperatura ambiental (13.23%) son los que contribuyen en todos los casos a las diferencias en la utilización de los microhábitats entre cada categoría etaria y condición reproductiva en hembras de esta población.

Tabla 2.

Valores de significancia ($p<0.05$) para la comparación entre pares por ANOSIM en la utilización de microhábitat para individuos de *P. bacchus*, entre sexos, categorías de edad y condición reproductiva en hembras, durante los periodos de lluvia (valores por encima de la línea) y periodos de sequía (valores por debajo de la línea). Machos (MA), juveniles indeterminados (JU), hembras juveniles (HJ), hembra vitelogénica I (HVI), hembra vitelogénica II (HVII) y hembra adulta no reproductiva (HNR).

Comparación entre pares

	MA	JU	HJ	HVI	HVII	HNR
MA		0.516	0.663	0.007	0.034	0.154
JU	1		0.726	0.247	0.293	0.797
HJ	0.114	1		0.066	0.019	0.112
HVI	0.472	0.744	0.410		0.431	0.095
HVII	0.322	1	1	0.218		0.061
HNR	0.060	0.361	0.651	0.044	0.528	

3.3. Sitios de preferencia para el canto

Se registraron y analizaron un total de 51 machos cantores de *P. bacchus*. Los cuales presentaron diferencias significativas en el sustrato y la altura de percha utilizada ($X^2_{\text{sustrato}}=57.15$, $p<0.001$, $gl=3$; $X^2_{\text{altura-percha}}=22.82$, $p<0.001$, $gl=4$), observándose

principalmente sobre hojas y tallos con preferencias de alturas entre 41-120 cm (Figura 10). No se encontraron diferencias significativas en la estructura de la vegetación entre los sitios usados y no usados por machos cantores, para las variables peso de hojarasca (g), cobertura de dosel, número de árboles y arbustos (Tabla 3). La presencia de machos cantores sólo estuvo relacionada con los porcentajes de humedad relativa y temperaturas ($R_T = -0.33$, $p = 0.003$, $N = 74$; $R_{RH} = 0.50$, $p < 0.001$, $N = 74$).

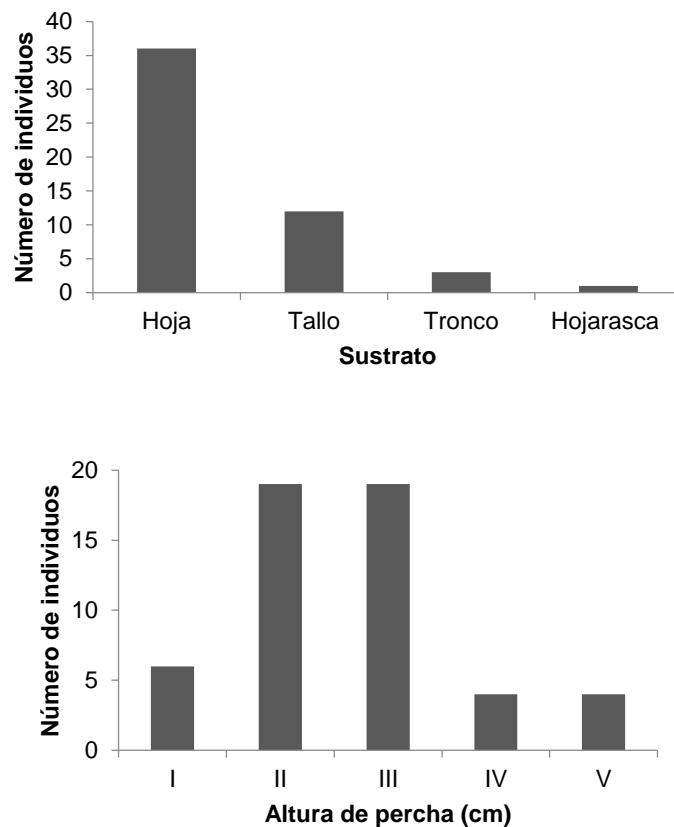


Figura 10. Tipo de sustrato y altura de percha utilizado para la actividad de canto por machos de *P. bacchus*. La altura de la percha está dividida por categorías 0-40 (I), 41-80 (II), 81-120 (III), 121-160 (IV), 161-200 (V) cm.

Tabla 3.

Resultados obtenidos para la prueba de U Mann-Whitney para las variables estructurales y ambientales de las perchas donde hubo presencia/ausencia de machos cantores, con valores media \pm desviación estándar. *p* significativo <0.05 .

Variables	Presencia (n=51)	Ausencia (n=51)	U	Valor p
Hojarasca (g)	259.82 \pm 159.65	219.37 \pm 127.53	1095	0.168
Capas vegetales	2.60 \pm 2.18	2.45 \pm 2.16	1241	0.686
Número de árboles	6.74 \pm 3.25	6.03 \pm 2.79	1159	0.340
Número de arbustos	29.52 \pm 11.88	25.66 \pm 10.31	1048.5	0.091
Cobertura de dosel (%)	16.05 \pm 2.32	17.08 \pm 4.62	1143	0.291
Temperatura (°c)	22.68 \pm 2.29	24 \pm 1.87	819	0.001
Humedad relativa (%)	89 \pm 9.71	79 \pm 9.99	612	<0.001
Velocidad del viento (mph)	0.37 \pm 0.64	0.15 \pm 0.41	1105	0.064

Los resultados del coeficiente de promedios (Δ AICc) para la regresión logística fueron diferentes. El modelo I fue seleccionado por el valor más bajo de AICc como el modelo que mejor se ajusta a la presencia de machos cantores de *P. bacchus* (Tabla 4). El Modelo I contiene 5 variables: Cobertura dosel, peso hojarasca, humedad relativa y temperatura ambiental.

Tabla 4.

Resultados de la regresión logística para los dos modelos evaluados mediante el criterio de información de AICc. Donde k es el número de parámetros libres en el modelo, $\Delta AICc$ es la diferencia entre el valor de AICc del segundo modelo y el valor AICc del mejor modelo, w_i es el peso de Akaike de los modelos, y cw es el peso acumulado.

Se registró el canto para un macho de *P. bacchus* en el área de estudio el 22 de mayo del 2016. El individuo registrado se encontró activo durante el día (12:20 h) sobre la hojarasca vocalizando a 120 cm de una hembra adulta, la temperatura ambiental era de 28.3°C. El canto registrado consiste en una nota simple no pulsada con amplitud modulada y 2 armónicos, separada de la siguiente nota por intervalos de tiempo de varios segundos (irregulares), semejante al goteo de la lluvia (Tic) (Figura 11). El individuo tenía una LRC de 27.4 mm y un peso de 1.6 g, emitiendo una tasa de aproximadamente 8 cantos/25 segundos, con una duración de nota de 23-53 ms (33 ± 11), una frecuencia entre 2.06 KHz (5% frecuencia) y 2.84 KHz (95% frecuencia), y un pico de frecuencia de 2.06-2.15 KHz (2.14 ± 33.23). La amplitud máxima del canto estuvo entre 4.77-13.32 (9.5 ± 3.07) y la mínima se reportó entre -11.45 y -4.0 (-8.58 ± 2.85).

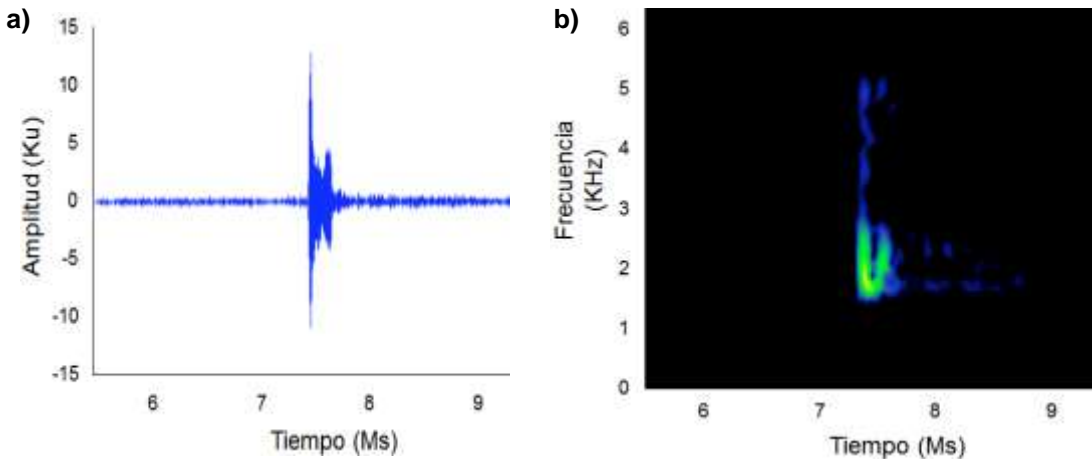


Figura 11. Descripción del llamado de aviso para *P. bacchus*. a) Oscilograma. b) Frecuencia del espectrograma. En la vereda La Colorada, San Vicente de Chucurí, Santander.

4. Discusión

4.1. Estructura etaria y tiempo de actividad

La presencia durante todo el muestreo de individuos de *P. bacchus* de todos los tamaños, edades y con actividad reproductiva para machos y hembras indica reclutamiento constante de individuos y actividad reproductiva continua o prolongada para la población, como ha sido observado en otras especies neotropicales de Terrarana (Ortega et al., 2005; Fong et al., 2010). Sin embargo, la observación de amplexos e individuos reproductivos durante la primera estación de lluvia del año y posteriores a la estación más seca indica que hay un pico reproductivo asociado con la primera estación de lluvias, que no se repite en la segunda estación de lluvias del año. Este patrón de picos reproductivos estacionales se ha observado en otras especies de

ranas terrestres (Ovaska, 1991; Bourne, 1997; Alonso et al., 2001; Canedo & Rickli, 2006; Arroyo et al., 2008; Blair & Doan, 2009; Waldez et al., 2011).

La observación de hembras grávidas incluyó los meses de la primera estación de lluvias del año y los meses de transición (marzo y julio) entre las estaciones secas y de lluvias, y un mes que se encuentra al inicio del segundo periodo de mayor precipitación (agosto), por lo tanto, la extensión del periodo de actividad reproductiva sería de seis meses. Un periodo similar ha sido reportado por Iturriaga (2014) para la especie *Eleutherodactylus planirostris* en Cuba, donde los periodos no reproductivos coinciden con las estaciones secas. En *P. bacchus*, no se observaron hembras grávidas ni amplexos durante el transcurso del periodo de mayor precipitación del año (septiembre-noviembre) ni para los meses más secos reportados para el área (diciembre-febrero). Esta drástica disminución de la actividad reproductiva podría asociarse con los altos costos energéticos durante la estación reproductiva (marzo-agosto) que incluyen para esta especie el cuidado parental de las posturas (Chinchilla-Lemus & Meneses-Pelayo, 2016). Durante los meses de septiembre a febrero los adultos de esta población pueden forrajear, crecer y almacenar energías como cuerpos grasos abdominales para la siguiente temporada reproductiva como ha sido sugerido para otras especies de ranas (Girish & Saidapur, 2000; Watling & Donnelly, 2002).

Los machos reproductivos fueron observados durante los meses de febrero-noviembre, indicando que el periodo de actividad reproductiva puede ser más prolongado (10 meses); sin embargo, es seguido de un cese de la actividad reproductiva en los meses más secos del año (diciembre y enero). Estos meses de baja precipitación inducen a los individuos a suspender la actividad de vocalización y a dirigirse hacia microhábitats que reduzcan la pérdida de agua y eviten la deshidratación (Pough et al., 1983).

En el caso de los juveniles, estos no son fáciles de encontrar en campo pues por su tamaño pequeño y coloración críptica son difíciles de detectar, en estos individuos al igual que en otras especies del género *Pristimantis* para Santander existe actividad tanto diurna como nocturna (Arroyo et al., 2008), por lo tanto, al sólo realizarse muestreos nocturnos se pierde la oportunidad de tener mayor número de observaciones de esta clase etaria.

La proporción de sexos sesgada hacia los machos puede ser un artificio de su detectabilidad por cuanto los machos cantores son más fáciles de localizar y capturar, así como se ha visto en otros estudios con ranas (Miyamoto 1982; Ortega et al., 2005; Waldez et al., 2011). Asimismo, el comportamiento de cuidado parental hasta la eclosión de los huevos se ha observado para las hembras de esta población (Chinchilla-Lemus & Meneses-Pelayo, 2016); este comportamiento se presenta dentro de la capa de hojarasca, haciéndolas de difícil detección.

El dimorfismo sexual marcado por LRC y peso para individuos de *P. bacchus* puede explicarse por razones asociadas con la reproducción y fecundidad (Lynch & Duellman, 1997), pues a pesar de que no se evaluó si existe una relación entre el número de huevos por postura y el tamaño corporal de la especie, se ha reportado para terraranas una relación positiva entre el tamaño de la hembra y el número de huevos (Duellman & Lerh, 2009; Ortega et al., 2005). Para *P. bacchus* Chinchilla-Lemus & Meneses-Pelayo (2016) registraron el segundo tamaño de camada más grande (57 huevos) para el género *Pristimantis* en Santander, lo que puede estar relacionado con los tamaños mayores encontrados para las hembras. Adicionalmente, en machos el costo energético por la actividad de canto puede limitar el crecimiento o la actividad de forrajeo de los individuos, ocasionando tamaños y pesos menores al comparar con las hembras, como ha sido sugerido en otras especies de ranas (Woolbright, 1989; Ortega et al., 2005).

4.2. Uso de microhábitat

Para individuos de *P. bacchus* se observó un patrón similar al reportado por Arroyo et al. (2008) para ensamblajes de *Pristimantis* en Santander, en los que la variación en la utilización del microhábitat no estuvo influenciada por los cambios estacionales del hábitat. A pesar de ello, las variaciones marcadas que se observaron en la utilización del microhábitat en los diferentes grupos de edad, sexo y condición reproductiva pueden estar asociadas a las restricciones fisiológicas de los individuos. Así, se encuentran durante el día y en horarios nocturnos de baja humedad individuos en la hojarasca; este sustrato permite evitar la desecación causada por las temperaturas altas y el fuerte viento encontrados en estratos superiores (Miyamoto, 1982). En horarios nocturnos y con altos porcentajes de humedad relativa, los individuos suelen ubicarse en perchas por encima de la hojarasca, con preferencia hacia las hojas que pueden utilizar con fines reproductivos (Blair & Doan, 2009).

Los juveniles de *P. bacchus* actúan de forma similar a lo reportado para otras especies de ranas terrestres las cuales, por alimentación, hidratación y evasión de depredadores suelen ubicarse sobre la hojarasca o en periodos de actividad sobre hojas a bajas alturas (Miyamoto, 1982; Guayasamin & Funk, 2009). Todas las hembras de esta especie se encontraron en el interior del fragmento de bosque utilizando preferencialmente microhábitats en sitios con abundante hojarasca, con alta humedad relativa y cobertura de dosel, semejante a otras especies de ranas terrestres (Urbina-Cardona & Pérez-Torres, 2002; Urbina-Cardona & Reynoso, 2009). Sin embargo, las hembras grávidas fueron las únicas observadas a más de 120 cm de altura, quizá como respuesta a la atracción de los machos reproductivamente activos que cantan desde

su percha sobre la vegetación, observación hecha asimismo para otras especies de ranas (Gerhardt, 1991).

Las hembras vitelogénicas I y adultas no reproductivas no presentaron variación en la utilización del sustrato, aunque se ubicaron principalmente sobre la hojarasca. Estas hembras utilizan este sustrato y estrato posiblemente debido a la disponibilidad de alimento en este microhábitat que favorece su crecimiento, además de brindar sitios que minimizan la depredación asegurando futuras progenies como ha sido sugerido en otras especies de ranas (Höbel, 1999; Girish & Saidapur, 2000; Urbina-Cardona & Pérez-Torres, 2002; Urbina-Cardona et al., 2006).

Por otra parte, los machos de *P. bacchus* utilizaron diferentes alturas y sustratos en relación con las condiciones ambientales del sitio y por las actividades de canto asociadas a la reproducción; se ha considerado que es fundamental para el éxito reproductivo de las ranas macho, el uso de perchas altas que permitan atraer hembras y eviten la presencia de otros machos con quienes competir (Townsend, 1989; Gerhardt, 1994; Solano et al., 2015).

Beard et al. (2003) y Herrera et al. (2004) encontraron que individuos de terraranas pueden partir su microhábitat de preferencia de acuerdo con la categoría de edad. La ausencia de relación entre la altura de percha con el peso y LRC de los individuos de *P. bacchus*, puede deberse al solapamiento de tamaños observado entre hembras con diferentes condiciones reproductivas y los machos, ya que estos utilizan espectros de alturas más amplios. Sin embargo, se observa que existen microhábitats de preferencia diferenciales que ayudarían a evitar la competencia de recursos entre dichas clases etarias (Miyamoto, 1982; Lynch & Duellman, 1997), ocurriendo una posible segregación de alturas de perchas.

4.3. Sitios de preferencia para el canto

La selección de sitios para el canto influye tanto en la supervivencia, como en el éxito reproductivo de los individuos (Höbel, 1999; Solano et al., 2015); sitios con gran cantidad de vegetación arbórea pueden evitar la deshidratación de las ranas y minimizar su depredación al ser menos visibles (Höbel, 1999, Höbel & Bartra, 2014). Sin embargo, una vegetación arbustiva compleja ocasiona grandes interferencias acústicas, disminuyendo el alcance de la vocalización y evitando la selección de pareja por parte de la hembra (Drewry & Rand, 1983; Bosch & De la Riva, 2004). Los resultados obtenidos en este trabajo indican que los machos cantores de *P. bacchus* tienen preferencia por perchas con estructuras vegetales que podrían ayudar a evitar la deshidratación de los individuos y minimizan el riesgo de depredación al ser menos visibles, como se ha observado en la rana arborícola *Hypsiboas pulchellus* (Dos santos et al., 2016)

Las especies de terraranas logran disminuir la interferencia en la emisión de sus cantos al utilizar perchas elevadas desde donde despliegan vocalizaciones omnidireccionales (Townsend, 1989; Alonso et al., 2001). Chinchilla-Lemus & Meneses-Pelayo (2016) reportaron individuos en amplexos axilares a alturas por encima de 1m y sitios de nidada para la especie bajo la hojarasca. Por lo tanto, el sitio del amplexo difiere del sitio de la postura. Los machos pueden seleccionar sitios de canto por encima o cerca de grandes cantidades de hojarasca donde la hembra pueda ovipositar y tener cuidado parental, y en donde hay altas humedades relativas, fundamentales para el desarrollo embrionario y el éxito reproductivo como ha sido observado para otras especies de desarrollo directo (Marsh & Pearman, 1997; Hedges et al., 2008; Urbina-Cardona & Reynoso, 2009; Duellman & Lerh, 2009).

También se encontró que la presencia de machos cantores de *P. bacchus* no estuvo relacionada con la estructura de la vegetación, pero sí con las condiciones ambientales del sitio como la temperatura y humedad relativa; se ha visto que las condiciones climáticas inducen fuertemente la actividad de especies de ranas terrestres (Navas, 1996; Alonso et al., 2001; Akmentins et al., 2014), lo que ocasiona que en periodos de altas temperaturas y baja humedad exista disminución en la actividad reproductiva, los individuos deben resguardarse en sitios que ayuden a tolerar las condiciones adversas (Schwarzkopf & Alford, 1996; Seebacher & Alford, 2002; Ospina et al., 2013).

El no encontrar diferencias significativas en la estructura vegetal entre los sitios usados y no usados por los machos para el canto, podría indicar que la diferenciación de la estructura vegetal fue mínima entre los transectos y el resto del bosque. Sin embargo, la prueba de U Mann-Whitney mostró que, los porcentajes de humedad relativa y temperatura ambiental observados entre las perchas variaron significativamente; los sitios utilizados para el canto presentaron porcentajes de humedad significativamente mayores y temperaturas más bajas, señalando que unos pocos cambios estructurales en la vegetación influyen en las condiciones microambientales de la percha.

4.4. Estatus de conservación de la población estudiada de *P. Bacchus*

pesar de que las especies de desarrollo directo tienen la habilidad de colonizar nuevos ambientes, existen especies que por sus requerimientos ambientales altos no logran sobrevivir en sitios más abiertos o degradados (Velásquez et al., 2011). Este es el caso de *P. bacchus* una especie que fue considerada por Gutiérrez-Lamus et al. (2004) como rara o poco común en el

Santuario de Flora y Fauna Guanentá Alto Rio Fonce, municipio de Charalá, Santander, con requerimientos ambientales específicos, encontrándose sólo hacia el interior de la matriz de bosque.

En el presente trabajo corroboramos esta condición y encontramos que la especie a pesar de ser común en el área de estudio, sólo habita el interior y los bordes de los relictos boscosos conservados en el área, y aunque puede tolerar el efecto de borde mencionado, la degradación o apertura total de la matriz de bosque ocasionaría efectos negativos directos sobre la supervivencia y reproducción de los individuos al ser dependiente de hábitats con estructuras vegetales que brinden alta cobertura de dosel y profundidad de hojarasca, los cuales además de aumentar la disponibilidad de microhábitats, mantienen niveles altos de humedad relativa, y temperaturas bajas y estables (Urbina-Cardona & Pérez-Torres 2002). La condición mencionada anteriormente clasificaría a *P. bacchus* como una especie de hábitats específicos o con distribución limitada a hábitats conservados por lo que se sugiere mantener el estatus de conservación como especie en peligro de extinción. Adicionalmente se reporta una nueva población y se amplía el rango de extensión altitudinal más bajo de la especie de 1740 a 1400 msnm.

5. Conclusiones

Hay variación intrapoblacional en el uso de microhábitat: Los juveniles se encontraron en estratos bajos y la hojarasca. Las hembras con folículos yemados pequeños ocupan la hojarasca del bosque, las ovígeras fueron las únicas hembras observadas en perchas altas (>120 cm). Los machos adultos ocuparon un amplio rango de 0-200 cm.

Las variaciones en la utilización del microhábitat presentadas por la población para las distintas clases etarias estuvieron influenciadas por las estrategias reproductivas y los requerimientos fisiológicos de los individuos.

Los machos adultos y reproductivamente activos de *P. bacchus* utilizan perchas con características estructurales específicas y ambientales que evitan la deshidratación y minimizan su depredación, con alturas por encima de los 41 cm.

6. Recomendaciones

Se recomienda para futuros trabajos realizar muestreos diurnos y nocturnos, que permitan conocer los periodos de actividad de la especie en las diferentes clases etarias.

Ubicar los transectos principalmente hacia la matriz del bosque y tratar de evitar el borde de este, debido a que por sus alteraciones climáticas y estructurales de la vegetación pueden sesgar los datos. Asimismo, que la distancia de separación entre los transectos sea mayor, lo cual permita tener muestras independientes.

Realizar trabajos que permitan conocer la real distribución potencial de la especie, que ayuden a aportar un mejor conocimiento en cuanto a la tolerancia y utilización de los diferentes microhábitats en cada una de las distribuciones altitudinales.

Referencias Bibliográficas

- Akmentins, M.S., Pereyra, L.C., Sanabria, E., & Vaira, M. (2014). Patterns of daily and seasonal calling activity of a direct-developing frog of the subtropical Andean forests of Argentina. *Bioacoustics*, 24:89-99.
- Alonso, R., Rodríguez-Gómez, A., & Estrada, A.R. (2001). Patrones de actividad acústica y trófica de machos cantores de *Eleutherodactylus eileenae* (Anura: Leptodactylidae). *Revista Española de Herpetología*, 15:45-52.
- Angulo A., Rueda-Almonacid, J. V., Rodríguez-Mahecha, J. V., & La Marca, E. Editores. (2006). Técnicas de inventario y monitoreo para anfibios de la región tropical andina. Conservación Internacional. Sede Manuales de Campo N° 2. Panamericana forma e impresos S.A. Bogotá DC, Colombia. Pp. 137.
- Arroyo, S. B., Serrano-Cardozo, V. H., & Ramírez-Pinilla, M. P. (2008). Diet, microhabitat and time of activity in a *Pristimantis* (Anura, Strabomantidae) assemblage. *Phyllomedusa* 7:109-119.
- Beard, K. H., McCullough, S., & Eschtruth, A. K. (2003). Quantitative assessment of habitat preferences for the Puerto Rican terrestrial frog, *Eleutherodactylus coqui*. *Journal of Herpetology*, 37: 10-17.
- Bioacoustics Research Program (2011). "Raven Pro: Interactive sound analysis software (Version 1.4) [Computer software]" (The Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY), Available from <http://www.birds.cornell.edu/raven> (Last viewed April 05, 2017).
- Blair, C., & Doan, T.M. (2009). Patterns of community structure and microhabitat usage in peruvian *Pristimantis* (Anura: Strabomantidae). *Copeia*, pp. 303–312.
- Bosch, J., & De La Riva, I. (2004). Are frog calls modulated by the environment? An analysis with anuran species from Bolivia. *Canadian Journal of Zoology*, 82: 880–888.

- Bourne, G. R. (1997). Reproductive behavior of terrestrial breeding frogs *Eleutherodactylus johnstonei* in Guyana. *Journal of Herpetology*, 221-229.
- Cáceres-Andrade, S., & Urbina-Cardona, JN. (2009). Ensamblajes de anuros de sistemas productivos y bosques en el piedemonte llanero, Departamento del Meta, Colombia. *Caldasia*, 31:175-194.
- Canedo, C., & Rickli, E. (2006). Female reproductive aspects and seasonality in the reproduction of *Eleutherodactylus binotatus* (Spix, 1824) (Amphibia, Leptodactylidae) in an Atlantic rainforest fragment, Southeastern Brazil. *Herpetological review*, 37:149-151.
- Castro, F., Herrera, M. I., Ramirez-Pinilla, M.P., & Rueda J.V. (2004). *Pristimantis bacchus*. IUCN 2016. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2016-1. (Consultado: 11 April 2017, www.iucnredlist.org).
- Chinchilla-Lemus, W., & Meneses-Pelayo, E. (2016). *Pristimantis bacchus* (wine Robber frog). Parental care and clutch size. *Herpetological review*, 47: 646-647.
- Dias, T.M., Maragno, F.P., Prado, C. P., & Cechin, S.Z. (2014). Reproductive site selection in the leaf-frog *Phyllomedusa azurea* Cope, 1862 (Anura: Hylidae) in altered areas of the Brazilian Cerrado. *Journal of Natural History*, 48: 2689-2699.
- Doan, T. M. (2004). Extreme weather events and the vertical microhabitat of rain forest anurans. *Journal of Herpetology* 38:422-425.
- Donegan, T. M., Avendaño, J. E., Briceño-L, E. R., Luna, J. C., Roa, C., Parra, R. Turner, C., Sharp, M., & Huertas, B. (2010). Aves de la Serranía de los Yariguíes y tierras bajas circundantes, Santander, Colombia. *Cotinga*, 32:72-89.
- Dos Santos, N. L. P. D. S., Colombo, P., Avila, F. R. D., Oliveira, M. D., & Tozetti, A. M. (2016). Calling Site Selection by the South American Tree-Frog *Hypsiboas pulchellus* (Anura, Hylidae) in Subtropical Wetlands. *South American Journal of Herpetology*, 11:149-156.
- Drewry, G. E., & Rand, A. S. (1983). Characteristics of an acoustic community: Puerto Rican frogs of the genus *Eleutherodactylus*. *Copeia*, pp. 941-953.

- Duellman, W., & Lehr, E. (2009). "Terrestrial-breeding frogs (Strabomantidae) in Peru". Naturund Tier-Verlag, Naturwissenschaft. Münster. Germany.
- Duellman, W. E. and L. Trueb. (1986). *Biology of amphibians*. New York: McGraw-Hill.
- Fong, G., Hero, J. M., Viña, R., & Bignotte- Giró, I. (2010). Population ecology of the riparian frog *Eleutherodactylus cuneatus* in Cuba. *Biotropica*, 42: 348-354.
- Frazer, G.W., Canham, C.D., & Lertzman, K.P. (1999). Gap Light Analyzer (GLA), Version 2.0: Imaging software to extract canopy structure and gap light transmission indices from true-colour fisheye photographs, user's manual and program documentation. Copyright © 1999: Simon Fraser University, Burnaby, British Columbia, and the Institute of Ecosystem Studies, Millbrook, New York.
- Frost, D.R. (2017). *Amphibian Species of the World: an Online Reference*. Version 6.0 (11 April 201). Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York, USA.
- García, J.C., Castro F., & Cárdenas, H. (2005). Relación entre la distribución de anuros y variables del hábitat en el sector La Romelia del Parque Nacional Natural Munchique (Cauca, Colombia). *Caldasia*, 27:299-310.
- Gerhardt, H. C. (1991). Female mate choice in treefrogs: static and dynamic acoustic criteria. *Animal Behaviour*, 42(4), 615-635.
- Gerhardt, H. C. (1994). The evolution of vocalization in frogs and toads. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 25(1), 293-324.
- Girish, S., & Saidapur, S. K. (2000). Interrelationship between food availability, fat body, and ovarian cycles in the frog, *Rana tigrina*, with a discussion on the role of fat body in anuran reproduction. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 286: 487-493.
- Goutte, S., Dubois, A., & Legendre, F. (2013). The importance of ambient sound level to characterise anuran habitat. *Plos One*, 8:e78020.

- Guayasamin, J. M., & Funk, W. C. (2009). The amphibian community at Yanayacu Biological Station, Ecuador, with a comparison of vertical microhabitat use among *Pristimantis* species and the description of a new species of the *Pristimantis myersi* group. *Zootaxa*, 2220: 41-66.
- Gutiérrez-Lamus, D., Serrano, V. H., & Ramírez-Pinilla, M. P. (2004). Composición y abundancia de anuros en dos tipos de bosque (natural y cultivado) en la cordillera Oriental de Colombia. *Caldasia*, 26:245–264.
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T., and P. D. Ryan. (2001). PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9pp.
- Hedges, S.B., Duellman, W.E., & Heinicke, M.P. (2008). New World directdeveloping frogs (Anura: Terrarana): Molecular phylogeny, classification, biogeography, and conservation. *Zootaxa* 1737: 1-182.
- Heinicke, M. P., Duellman, W. E., Trueb, L., Means, D. B., MacCulloch, R. D., & Hedges, S. B. (2009). A new frog family (Anura: Terrarana) from South America and an expanded direct-developing clade revealed by molecular phylogeny. *Zootaxa*, 2211, 1-35.
- Hero, J. M. (1989). A simple code for toe clipping anurans. *Herpetological Review*, 20: 66-69.
- Herrera M.A., Olaya, L. A., & Castro Herrera, F. (2004). Incidencia de la perturbación antrópica en la diversidad, la riqueza y la distribución de *Eleutherodactylus* (Anura: Leptodactylidae) en un bosque nublado del suroccidente colombiano. *Caldasia*, 26: 265-274.
- Heyer, R., Donnelly, M. A., Foster, M., & McDiarmid, R. (1994). Measuring and monitoring biological diversity: standard methods for amphibians. Smithsonian.
- Hijmans, R. J., Cameron, S. E., Parra, J. L., Jones, P. G., & Jarvis, A. (2005). Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International journal of climatology*, 25(15), 1965-1978.
- Höbel, G. (1999). Notes on the natural history and habitat use of *Eleutherodactylus fitzingeri* (Anura: Leptodactylidae). *Amphibia-Reptilia*, 20:65-72.

- Höbel, G., & Barta, T. (2014). Adaptive plasticity in calling site selection in grey treefrogs (*Hyla versicolor*). *Behaviour*, 151:741–754.
- Holdridge, L.R. (1967) Life zone ecology. San José, Costa Rica: Tropical Science Center.
- Iturriaga, M., Sanz, A., & Oliva, R. (2014). Seasonal reproduction of the greenhouse frog *Eleutherodactylus planirostris* (Anura: Eleutherodactylidae) in Havana, Cuba. *South American Journal of Herpetology*, 9: 142-150.
- Keating, K. A., & Cherry, S. (2004). Use and interpretation of logistic regression in habitat-selection studies. *Journal of Wildlife Management*, 68: 774-789.
- Lynch, J. D., & W. E. Duellman. (1997). Frogs of the genus *Eleutherodactylus* in western Ecuador. Systematics, ecology, and biogeography. Special Publication. Natural History Museum, University of Kansas 23: 1–236.
- Lynch, J. D., Ruiz-Carranza, P. M., & Ardila-Robayo, M. C. (1997). Biogeographic Patterns of Colombian Frogs and Toads| Patrones biogeográficos de las ranas y los sapos de Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 21:237-248.
- Lynch, J.D. (1984). New frogs (Leptodactylidae: Eleutherodactylus) from cloud forest of the northern Cordillera Oriental, Colombia. *Contributions in Biology and Geology*. Milwaukee Public Museum, 60: 1–19.
- Marsh, D. M., & Pearman, P. B. (1997). Effects of habitat fragmentation on the abundance of two species of Leptodactylid frogs in an Andean montane forest. *Conservation Biology*, 11: 1323-1328.
- Martin, C., Guy, L., & Taylor, R.C. (2011). Male position relative to foam nests influences female mate choice in the Túngara frog, *Physalaemus pustulosus*. *Journal of Herpetology*, 45: 178-80.
- Mazerolle, M. J. (2006). Improving data analysis in herpetology: using Akaike's Information Criterion (AIC) to assess the strength of biological hypotheses. *Amphibia-Reptilia*, 27: 169-180.

- Mazerolle, M. J. (2016). AICcmodavg: Model selection and multimodel inference based on (Q)AIC(c). R package version 2.1-0. <https://cran.r-project.org/package=AICcmodavg>.
- McCallum, M.L., Trauth, S.E., McDowell, C., Neal, R.G., & Klotz, T.L. (2006). Calling site characteristics of the Illinois Chorus Frog (*Pseudacris streckeri illinoensis*) in northeastern Arkansas. *Herpetological Natural History*, 9: 195–198.
- Miyamoto, M. M. (1982). Vertical habitat use by Eleutherodactylus frogs (Leptodactylidae) at two Costa Rican localities. *Biotropica*, 141-144.
- Muñoz-Guerrero, J., Serrano, V. H., & Ramirez-Pinilla, M. P. (2007). Uso de microhábitat, dieta y tiempo de actividad en cuatro especies simpátricas de ranas hílidas neotropicales (Anura: Hylidae). *Caldasia*, 29:413–425.
- Nali, R.C., & Prado, C.P.A. (2012). Habitat use, reproductive traits and social interactions in a stream-dweller treefrog endemic to the Brazilian Cerrado. *Amphibia-Reptilia*, 33:337–347.
- Navas, C.A. (1996). Implications of microhabitat selection and patterns of activity on the thermal ecology of high elevation neotropical anurans. *Oecologia*, 108:617– 626.
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Friendly M., Kindt R., Legendre, P., McGlenn D., Minchin, P.R., O'Hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H., Szoecs, E., & Wagner, H. (2017). *Vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.0-10. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [online.] URL: <http://cran.r-project.org/package=vegan>
- Oliveira, F.F.R., & Eterovick, P.C. (2010). Patterns of spatial distribution and microhabitat use by syntopic anuran species along permanent lotic ecosystems in the cerrado of Southeastern Brazil. *Herpetologica*, 66:159–171.
- Ortega, J. E., Serrano, V. H., & Ramírez-Pinilla, M. P. (2005). Reproduction of an introduced population of *Eleutherodactylus johnstonei* at Bucaramanga, Colombia. *Copeia*, 3: 642-648.

- Ospina, O. E., Villanueva-Rivera, L. J., Corrada-Bravo, C. J., & Aide, T. M. (2013). Variable response of anuran calling activity to daily precipitation and temperature: implications for climate change. *Ecosphere* 4: 47.
- Ovaska, K. (1991). Reproductive phenology, population structure, and habitat use of the frog *Eleutherodactylus johnstonei* in Barbados, West Indies. *Journal of herpetology*, 424-430.
- Ponssa, M. L. (2004). Utilización espacial y temporal de una comunidad de anuros de Kent's Marsh (Gamboa, Panamá). *Revista Española de Herpetología*, 18:5-18.
- Pough, F. H., Taigen, T. L., Stewart, M. M., & Brussard, P. F. (1983). Behavioral modification of evaporative water loss by a Puerto Rican frog. *Ecology*, 64: 244-252.
- R Development Core Team. 2011. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [online.] URL: [http:// www.r-project.org](http://www.r-project.org).
- Schwarzkopf, L., & Alford, R. A. (1996). Desiccation and shelter-site use in a tropical amphibian: comparing toads with physical models. *Functional Ecology*, 193-200.
- Seebacher, F., & Alford, R. A. (2002). Shelter microhabitats determine body temperature and dehydration rates of a terrestrial amphibian (*Bufo marinus*). *Journal of Herpetology*, 36(1), 69-75.
- Solano, L., Lizcano, D. J., & Mercado-Gómez, J. (2015). Selection of calling sites by the Neotropical treefrog *Hypsiboas crepitans*. *Revista Biodiversidad Neotropical*, 5:71-75.
- StatSoft, Inc. (2004). STATISTICA (data analysis software system), version 7. www.statsoft.com.
- Townsend, D. S. (1989). The consequences of microhabitat choice for male reproductive success in a tropical frog (*Eleutherodactylus coqui*). *Herpetologica*, pp. 451-458.
- Urbina-Cardona, J., & Pérez-Torres, J. (2002). Dinámica y preferencias de microhábitat en dos especies del género *Eleutherodactylus* (Anura: Leptodactylidae) de bosque andino. En: C. A. Jaramillo, C. A. Castaño-Urbe, F. A. Hincapié, J. V. Rodríguez, & C. L. Durán

- (Eds.), Memorias del Congreso Mundial de Páramos. Gente Nueva, Bogotá, Colombia (pp. 278-288).
- Urbina-Cardona, J. N., Olivares-Pérez, M., & Reynoso, V.H. (2006). Herpetofauna diversity and microenvironment correlates across the pasture-edge-interior gradient in tropical rainforest fragments in the region of Los Tuxtlas, Veracruz. *Biological Conservation*, 132:61-75.
- Urbina-Cardona, J. N., & Reynoso, V. H. (2009). Uso del microhábitat por hembras grávidas de la rana de hojarasca *Craugastor loki* en la selva alta perennifolia de Los Tuxtlas, Veracruz, México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 80: 571-573.
- Vargas-Salinas, F. & Castro-Herrera, F. (1999). Distribución y preferencias de microhábitat en anuros (Amphibia) en bosque maduro y áreas perturbadas de Anchicayá, Pacífico colombiano. *Caldasia*, 21:95-108.
- Velásquez, L., Flórez, M., Castro, S., Canedo, V., & Urbina-Cardona, J.N. (2011). Relación entre las variables ambientales y estructurales del microhábitat con ensamblajes de anfibios en una plantación de urapanes y un bosque en el SFF Otún Quimbaya. P. 57- En: Amaya-Espinel, J.D., Bedoya-Montalvo, J.J., De la Cruz-Godoy, J.C. & Urbina-Cardona, J.N. (eds.). "Memorias Curso en Ecología y Conservación de la Biodiversidad Neotropical". Instituto de Estudios Ambientales para el Desarrollo (IDEADE) y Fundación Maconde. Bogota, Colombia 163pp. ISBN 978-958-716-497-8.
- Villanueva-Rivera, L. J. (2014). *Eleutherodactylus* frogs show frequency but no temporal partitioning: implications for the acoustic niche hypothesis. *PeerJ* 2:e496.
- Waldez, F., Menin, M., Rojas-Ahumada, D. P., & Lima, A. P. (2011). Population structure and reproductive pattern of *Pristimantis* aff. *fenestratus* (Anura: Strabomantidae) in two non-flooded forests of Central Amazonia, Brazil. *South American Journal of Herpetology*, 6(2), 119-126.
- Watling, J. I., & Donnelly, M. A. (2002). Seasonal patterns of reproduction and abundance of leaf litter frogs in a Central American rainforest. *Journal of Zoology*, 258: 269-276.
- Wells, K.D., & Schwartz, J.J. (1982). The effect of vegetation on the propagation of calls in the Neotropical frog *Centrolenella fleischmanni*. *Herpetologica*. 38:449– 455.

Woolbright, L. L. (1989). Sexual dimorphism in *Eleutherodactylus coqui*: selection pressures and growth rates. *Herpetologica*, 68-74.

Ziegler, L., Arim, M., & Narins, P.M. (2011). Linking amphibian call structure to the environment: the interplay between phenotypic flexibility and individual attributes. *Behavioral Ecology*, 22:520–526.