



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A. C.
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**COMPARACIÓN DE LA BIOACÚSTICA DE DOS ESPECIES DEL
GÉNERO *RANA* (AMPHIBIA: RANIDAE) EN HONDURAS**

Tesis que presenta

EMMANUEL ORELLANA MURILLO

En opción al título de

MAESTRO EN CIENCIAS

(Ciencias Biológicas: opción recursos naturales)

Mérida Yucatán, México

2023

*CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE
YUCATÁN, A. C. POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS*



RECONOCIMIENTO

Por medio de la presente, hago constar que el trabajo de tesis de **Emmanuel Orellana Murillo** titulado “**COMPARACIÓN DE LA BIOACÚSTICA DE DOS ESPECIES DEL GÉNERO RANA (AMPHIBIA: RANIDAE) EN HONDURAS**” , fue

realizado en la Unidad de Recursos Naturales, en la línea de Sistemática y Florística, del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. bajo la dirección del **Dr. Germán Carnevali Fernández-Concha**, dentro de la opción Recursos Naturales, perteneciente al Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas de este Centro y la codirección del Dr. Jonathan Ian Miller de la Universidad Nacional Autónoma de Honduras.

Atentamente



Dra. Cecilia Hernández
Zepeda
Directora de Docencia

Mérida, Yucatán, México, a 21 de noviembre de 2023

DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en la sección de materiales y métodos experimentales, los Resultados y Discusión de este documento proviene de las actividades de experimentación realizadas durante el período que se me asignó para desarrollar mi trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. Así como en localidades de Honduras y que a razón de lo anterior y en contraprestación de los servicios educativos o de apoyo que me fueron brindados, dicha información, en términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, le pertenece patrimonialmente a dicho Centro de Investigación. Por otra parte, en virtud de lo ya manifestado, reconozco que de igual manera los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que deriven o pudieran derivar de lo correspondiente a dicha información, le pertenecen patrimonialmente al Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y en el mismo tenor, reconozco que si derivaren de este trabajo productos intelectuales o desarrollos tecnológicos, en lo especial, estos se registrarán en todo caso por lo dispuesto por la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, en el tenor de lo expuesto en la presente Declaración.



Emmanuel Orellana Murillo

AGRADECIMIENTOS

Académico

Al Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C. (CICY) por los servicios brindados para mi formación académica.

A mi comité tutorial y a mis revisores por la asesoría, el apoyo la paciencia y el tiempo que me dieron para el mejoramiento de mi trabajo, especialmente al Dr. Germán Carnevali y la Dra. Ivón Ramírez Morillo.

Logísticos

Al Dr. Eric Van Den Berghe y el Dr. Oliver Komar del Centro Zamorano de Biodiversidad, por su apoyo logístico y permiso para trabajar en los sitios donde realicé mis muestreos igualmente mis agradecimientos a Don Ángel Ponce el guía de campo en la Reserva Biológica Uyuca.

Agradezco al colega David Murillo de la ONG HN biology investigación y al colega Diego Ardón por su apoyo y consejos en la parte estadística de este trabajo.

Un agradecimiento especial al Dr. Josiah Townsend y a Ileana Luque por su invaluable apoyo logístico y sus consejos, sin los cuales esto no hubiese sido posible.

Personales

A mi familia y amigos por la paciencia brindada durante el tiempo de mi formación que a pesar de que se dio en tiempos de aislamiento, no dejaron de dar muestras de su apoyo en todo momento.

Dedicatorias

A mi madre y hermana quienes fueron mis compañeras en esta maestría en tiempos de pandemia, sin su ayuda no lo hubiera logrado, todos mis esfuerzos los he realizado pensando en ellas.

A mi padre por haber apoyado en mi niñez el amor por la naturaleza y el interés por la ciencia.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	ii
ABSTRACT	1
1.1 INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO I	5
1.1 ANTECEDENTES	5
1.1.1 Evolución de los llamados del género <i>Rana</i>	5
1.1.2 Diversidad en Honduras, El caso de la herpetofauna	6
1.1.3 El género <i>Rana</i> en Honduras.....	8
1.3 JUSTIFICACIÓN.....	10
1.4 HIPOTESIS	10
1.5 OBJETIVOS	11
1.5.1 Objetivo general.....	11
1.5.2 Objetivos específicos.....	11
CAPITULO II	13
MATERIALES Y MÉTODO	13
2.1 INTRODUCCIÓN.....	13
2.2 ESTRATEGIA EXPERIMENTAL.....	14
2.2.1 Selección de sitios	14
2.2.2 Grabación de llamados.....	14
2.2.3 Procesamiento de los cantos	15
2.2.4 Análisis estadístico	15
CAPITULO III	19
RESULTADOS	19
3.1 obtención de muestras	19
3.1.2 Espectrogramas.....	21
3.1.3 Pruebas estadísticas	23
CAPITULO IV	25
4 DISCUSIÓN.....	25
4.1 Diferencias en los cantos.....	25
4.2 Especies cripticas.....	26
4.3 Especies en simpatría.....	27
CAPITULO V	29
5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....	29
5.1 Conclusiones.....	29

5.2 Perspectivas.....	29
BIBLIOGRAFÍA.....	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Filogenia de los principales linajes del género <i>Rana</i> , el árbol se derivó de la combinación de seis loci nuDNA y tres mtDNA Yuan et al. (2016)	3
Figura 2. Espectrogramas de los llamados de apareamiento de cuatro especies de <i>Pantherana</i> , (adaptado y redibujado por (Hillis & Wilcox, 2005) del trabajo de Frost y Platz 1983) los llamados de las primeras dos especies son del tipo “snore” y las dos restantes son llamados de tipo “chuckle”	6
Figura 3. <i>Rana lenca</i> , comunidad de Las Trancas, Municipio de Opatoro, Departamento de La Paz, Honduras. (Fotografía Emmanuel Orellana)	9
Figura 4. Laguna ubicada en Reserva Biológica Uyuca foto: Emmanuel Orellana	20
Figura 5. Una de las lagunas ubicada en Las Canteras del Zamorano Foto: Emmanuel Orellana	20
Figura 6. Espectrograma (arriba) y oscilograma (abajo) de cantos de (a) <i>Rana lenca</i> , julio de 2021 temperatura= 18 °C humedad del aire= 83% y (b) <i>Rana forreri</i> septiembre de 2021 temperatura= 21 °C humedad= 80%. Parámetros del espectrograma: ancho de ventana= 512 traslape=90% Figura creada con el paquete de R “seewave”	21
Figura 7. El análisis canónico de variables (CVA) muestra una diferencia en las especies basado en comparaciones de sus tres tipos de canto	22
Figura 8. porcentaje de variación explicado por los componentes principales	23
Figura 9. Diferencias en parámetros físicos individuales de los cantos de <i>Rana forreri</i> y <i>Rana lenca</i> . DT= delta time, NRR=tasa de repetición de notas, LF= frecuencia más baja, HF=frecuencia más alta, DF= Delta 8, PF= frecuencia pico	24

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Tabla de datos de los cantos de <i>R. lenca</i> y <i>Rana forreri</i> ; NN:número de notas, DT: delta time, NRR: tasa de repetición de notas, LF: frecuencia más baja, HF: frecuencia más alta, DF: delta frequency, PF: frecuencia pico, T:temperatura, H: porcentaje de humedad	35
--	----

Anexo 2 Release call o canto de liberación de *Rana forreri* Este canto fue grabado cuando un individuo lo emitió al ser manipulado, el tipo de canto es errático y no tiene valor taxonómico38

RESUMEN

Anura es el más diverso de los 3 órdenes de la clase Amphibia, conocidos coloquialmente como ranas y sapos, que se caracterizan por carecer de cola en etapa adulta y de poseer en su mayoría apéndices posteriores muy desarrollados y adaptados a salto. Uno de los comportamientos más importantes para la reproducción de los anuros son las vocalizaciones, las cuales son utilizadas con fines defensivos y de apareamiento. Las llamadas de apareamiento son las más importantes desde el punto de vista taxonómico y evolutivo, pues ayudan a distinguir entre especies y contribuye a evitar la hibridación. En Honduras existe un grupo particular de anuros del género *Rana*, cuyas especies son muy parecidas entre sí; los miembros de este género poseen una complejidad considerable en sus llamados, siendo estos una posible herramienta para distinguirlos entre sí.

Este trabajo fue realizado en Honduras, ubicado en el corazón de la América central, específicamente en la zona centro oriente del país, el estudio se centró en dos especies del género *Rana lenca*, una especie endémica de Honduras y *Rana forreri* cuya distribución se registra en la zona sur del país ambas comparten algunas de las localidades de distribución. El objetivo fue responder si existen diferencias en los parámetros temporales y espectrales de los llamados de estas especies que contribuyan a diferenciarlas, para ello se definieron sitios de muestreo y se procedió a realizar grabaciones de las vocalizaciones de ambas especies para luego analizarlas utilizando programas de computadora especializados en procesamiento de datos acústicos. Las pruebas estadísticas mostraron que existen diferencias significativas en algunas de las variables medidas, tanto en el patrón de las notas como en su frecuencia, siendo *R. lenca* la que presentó en promedio frecuencias más agudas, relacionado probablemente a su menor tamaño corporal. *Rana forreri* presentó mayor número de notas e intervalos más cortos entre estas. Tomando en cuenta las disimilitudes en los llamados de estas especies se puede concluir que son lo suficientemente diferentes para ser consideradas grupos distintos desde el punto de vista acústico, apoyado por los análisis genéticos y morfológicos realizados en la descripción de *Rana lenca*.

Palabras clave: *Rana lenca*, *Rana forreri* llamados de advertencia, Parámetros de canto.

ABSTRACT

Anura is the most diverse of the three orders of the Amphibia class, colloquially known as frogs and toads and, they are characterized by lacking a tail in the adult stage and most of them having highly developed hind limbs adapted to jumping. One of the most important behaviors for the reproduction of anurans are vocalizations, which are used for defensive and mating purposes. Mating calls are the most important from a taxonomic and evolutionary point of view, as they help distinguish between species and help prevent hybridization. In Honduras there is a particular group of anurans, the genus *Rana* whose species are very similar to each other, this genus has considerable complexity in its calls, these being a possible tool to distinguish them from each other.

This work was carried out in Honduras, located in the heart of Central America, specifically in the central eastern part of the country. The study focused on two species of the genus *Rana lenca*, an endemic species of Honduras, and *Rana forreri*, both of which share some of the distribution locations. The objective was to answer if there are any differences in the temporal and spectral parameters of the calls of these species that contribute to differentiate them, for which sampling sites were defined and recordings of the vocalizations of both species were made and then analyzed using programs specialized in acoustic data processing. The statistical tests showed that there are significant differences in some of the variables measured, both in the pattern of the notes and in their frequency, with *R lenca* presenting the highest frequencies on average, probably due to its smaller size. *R forreri* presented a greater number of notes and shorter intervals between them. Taking into account the dissimilarities in the calls of these species, it can be concluded that they are different enough to be considered distinct groups from the acoustic point of view, supporting the genetic and morphological analyzes carried out in the description of *R lenca*.

Keywords: *Rana lenca*, warning calls, Song parameters.

1.1 INTRODUCCIÓN

Una señal en zoología se define como el uso de adaptaciones, en el comportamiento o la morfología de una especie, para influir en el comportamiento actual o futuro de otro individuo (Owren *et al.*, 2010) Estas señales pueden ser dirigidas a conespecíficos, como machos que representan una competencia por recurso, o a hembras que constituyen una pareja potencial; también puede ser dirigido a individuos de otras especies, principalmente para alertar sobre la presencia de depredadores.

En los anfibios estas señales pueden ser visuales; mostrando colores que son interpretados por los depredadores como advertencias de toxicidad; también son útiles para la selección de pareja en algunas especies; por ejemplo, en el caso de las ranas flecha roja, *Oophaga pumilio* (Schmidt, 1857) en Panamá (Summers *et al.*, 1999) Algunos anfibios hacen despliegues de comportamiento como las tremulaciones, que son vibraciones agresivas producidas por las ranas de ojos rojos, *Agalychnis callidryas* (Cope, 1862), sobre la vegetación (Caldwell *et al.*, 2010); otros emiten señales golpeando la bolsa gular contra el suelo tal como *Leptodactylus albilabris* (Gunther, 1859) (Lewis *et al.*, 2001) e *Hydrolaetare dantasi* (Bokermann, 1959) (De Souza y Haddad, 2003) o tamborileando con las extremidades anteriores sobre el sustrato, como hace *Leptodactylus siphax* (Bokermann, 1969) (Cardoso y Heyer, 1995).

Uno de los comportamientos más importantes para la permanencia y perpetuación de las especies de anuros es la vocalización. Según Toledo *et al.* (2015) las vocalizaciones de los anuros tienen muchas categorías, pero se pueden dividir en tres grupos principales: i) llamadas defensivas, ii) agresivas y ii) de apareamiento. Dentro de las categorías propuestas, las llamadas de apareamiento son las más interesantes desde el punto de vista evolutivo y ecológico, ya que son utilizadas para la discriminación de machos conespecíficos por parte de las hembras, lo que es un ejemplo de selección sexual. Una llamada reproductiva en especial; el canto de "advertencia" es utilizado también para advertir o anunciar disposición sexual, posición y tamaño del macho (Gerhardt, 1994).

El grupo conocido como "Ranas leopardo" pertenecen a la familia Ranidae, género *Rana*; es un grupo casi cosmopolita, (pero no se distribuye de manera natural en Australia y África). Se han descrito más de 100 especies de las cuales aproximadamente 12 se encuentran en Europa, 32 en Asia y 57 en América: el subgénero *Pantherana*, cuya distribución está documentada en Mesoamérica, cuenta con más de 28 especies, distribuidas desde Norte América hasta el sur de Panamá (Yuan *et al.*, 2016).

Se estima que la familia Ranidae comenzó a diversificar hace alrededor de 57 millones de años (Van Bocxlaer *et al.*, 2006). Según Yuan *et al.*, (2016) el género *Rana* tiene su punto de origen en el este de Asia, con dos patrones independientes de radiación una hacia Europa y el otro hasta América vía el puente de Bering, Las *Rana* del Viejo Mundo exhiben diferentes trayectorias de diversificación, primero bastante lento y luego con un incremento en la tasa de especiación hace alrededor de unos 29–18 millones de años. (Yuan *et al.*, 2016), posiblemente a raíz de movimientos tectónicos y cambios ambientales en Asia durante el Oligoceno y el Mioceno temprano; en contraste, el género tuvo una rápida radiación en el Nuevo Mundo, especialmente en montañas tropicales de México, Centro América y parte de América del Sur, donde habitan especies como *R. vaillanti* (Brocchi, 1877) *R. catesbiana* (Shaw, 1802) y *R. palmipes*. (Spix, 1824). La gran diversidad morfológica de este género en América esta correlacionada con la variedad ecológica, fisiológica, de comportamiento y estructuras asociadas con los cantos de apareamiento (Hillis y Wilcox, 2005).

En América, el género se estudia agrupándolo en sub géneros o complejos taxonómicos de acuerdo a su distribución, características morfológicas, ecológicas y genéticas. Así tenemos el grupo de las *Aquarana* (North American water frogs) un subgénero que se caracteriza por tener un dorso de color verde a café, cabeza ancha y un tímpano prominente en ambos sexos, luego un clado descendiente de las ranas asiáticas, que divergió y se expandió, una parte hacia la altiplanicie mexicana y otra hacia el Neotrópico dando lugar hace unos 31 millones de años a los linajes de *Zweifelia* (las ranas de torrente), ranas con un tímpano indistinto y con machos sin sacos vocales y a *Pantherana* (Ranas leopardo) que se distinguen por presentar manchas dorsales bastante conspicuas (Yuan *et al.*, 2016) Figura 1.

Los miembros del subgénero *Pantherana* tienen una historia sistemática compleja; anteriormente, se pensaba que muchas de las especies relacionadas formaban parte de un único taxón, ampliamente distribuido que se extendía desde Canadá hasta Panamá Moore, (1944); en cambio se trata de varios linajes que se extienden entre Norteamérica y Mesoamérica. Algunas especies de ranas leopardo, se encuentran viviendo en simpatria, con poca o ninguna hibridación (Littlejohn y Martin, 1969). Hay mucho que hacer desde el punto de vista taxonómico en *Pantherana*; este grupo presenta ciertos vacíos de información y posibles nuevas especies que deben ser descritas y documentadas, especialmente en Centro América.

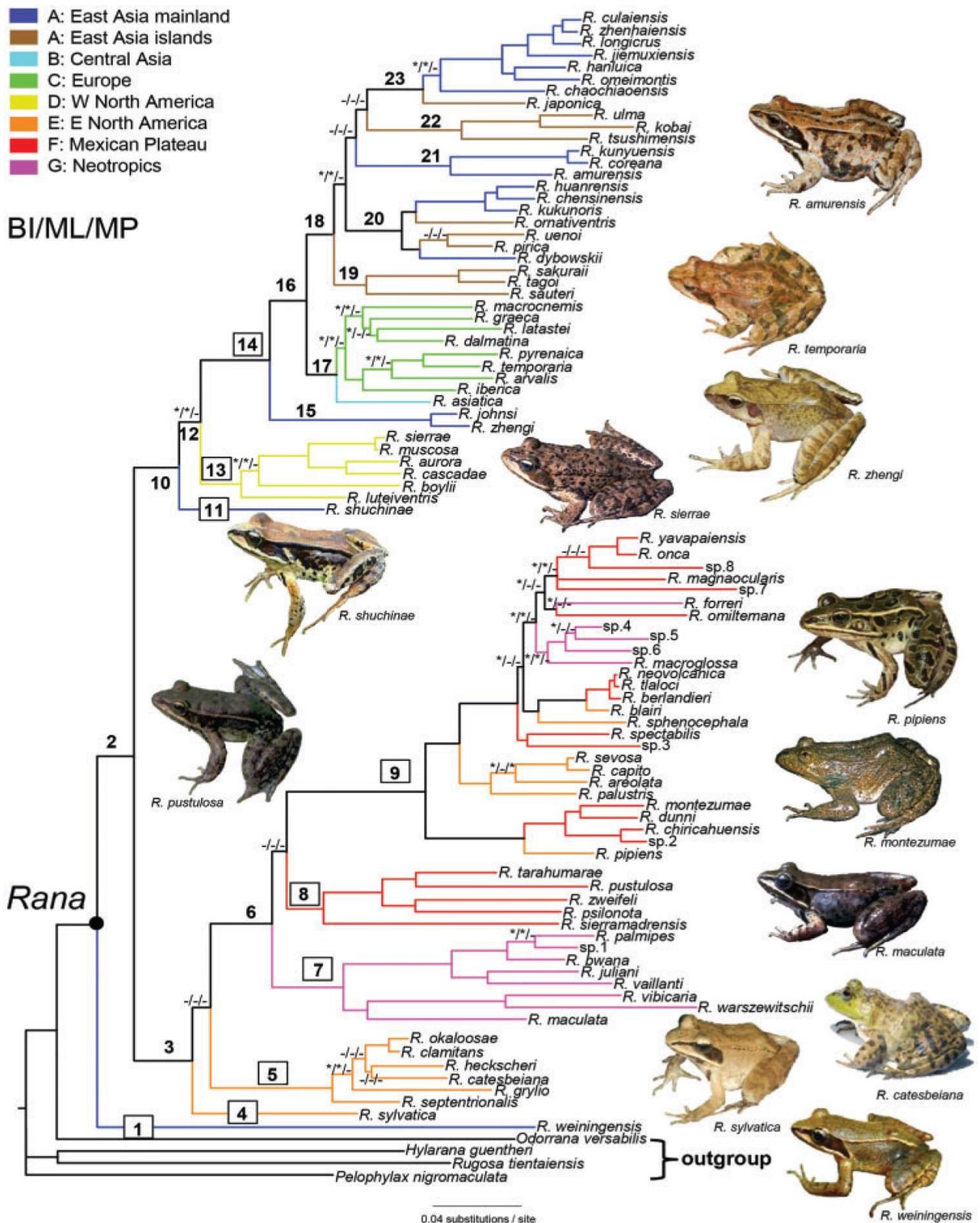


Figura1 Filogenia de los principales linajes del género Rana, el árbol se derivó de la combinación de seis loci de nuDNA y tres de mtDNA (Yuan et al., 2016).

CAPITULO I

1.1 ANTECEDENTES

1.1.1 Evolución de los llamados del género Rana

Los llamados de advertencia de muchas especies de *Pantherana* son muy complejas y consisten de varios elementos distintos estos son descritos por algunos autores como ronquidos, “chuckles”, gruñidos o trinos (Hillis y Wilcox, 2005) Estos cantos pueden ser asociados en la mayoría de los casos con atracción de pareja, pero también pueden sugerir una función adicional territorial y agresiva (Littlejohn y Oldham, 1968).

Según Larson, (2004) los cantos tipo ronquido consisten en una tasa de pulsos rápida y relativamente uniforme, con una larga serie de pulsos continuos (30-80 en varias especies) este tipo de canto se encuentra por ejemplo en *Rana pipiens*, en contraste las especies del grupo *Scuilirrana* presentan la forma de canto llamado “Chuckle” que consiste en grupos de pulsos en un número variable (4-12), cada grupo con una tasa de pulso más lenta y con un gran espacio entre pulsos comparada con el tipo “ronquido” (Figura 2).

Los cantos tipo ronquido son ancestrales en *Pantherana*, y se han modificado a cantos tipo chuckle en algunas especies. Se ha demostrado que *Rana pipiens* tiene un complejo canto que muchas veces consiste en ambos tipos de sonidos: el ronquido identificado por muchos autores como el canto de apareamiento, pero también el chuckle con algunos elementos como gruñidos (Larson, 2004).

Los cantos de *Pantherana* están entre los más complejos y diversos de los anuros, además este grupo ha tenido una rápida especiación y diversificación estos factores juntos indican que es un grupo ideal para el estudio de la evolución del canto y su relación con el aislamiento reproductivo (Hillis y Wilcox, 2005).

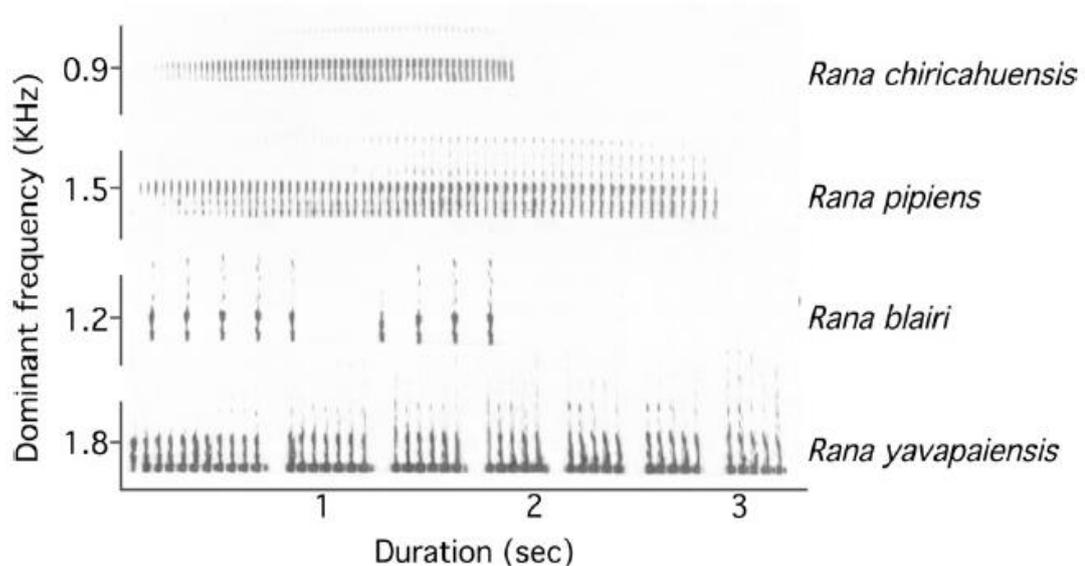


Figura 2 Espectrogramas de los llamados de apareamiento de cuatro especies de *Pantherana*, adaptado y redibujado por Hillis y Wilcox (2005) del trabajo de Frost y Platz 1983) los llamados de las primeras dos especies son del tipo “snore” y las dos restantes son llamados de tipo “chuckle”.

1.1.2 Diversidad en Honduras, El caso de la herpetofauna

Honduras es un país con un relieve muy montañoso lo que da lugar a la existencia de varios pisos altitudinales, que van desde los 0 a los 2849 metros en su pico más elevado en el occidente del país (Cerro Las Minas en el Parque Nacional Celaque).

Estas características, sumadas a su clima tropical, y a que es el segundo país más grande de Centro América (112, 492 km²) solo superado por Nicaragua (130,373 km²) propician la existencia de múltiples ecosistemas; en las zonas bajas se encuentran valles con bosques secos y matorrales, a medida que aumenta la altura se encuentran bosques de pino y bosques húmedos, hasta llegar a los bosques nubosos en las zonas más altas (Mejía y House, 2002). Dichos ecosistemas albergan una gran diversidad de vertebrados, entre los que encontramos según MiAmbiente (2014) 672 especies de peces, 718 especies de aves y 228 especies de mamíferos.

En el caso de la herpetofauna, el estudio de este grupo en Honduras comienza con el viaje de John R. Mayer en 1963 con la finalidad de realizar las primeras observaciones en sus expediciones, continuando con los esfuerzos de Wilson en 1983 que publicó el

primer listado para el país y Wilson y McCranie (1994) publicando el segundo. El último listado oficial fue realizado por McCranie (2015) que reportó un número total de 401 especies (137 anfibios y 264 reptiles) contrastando con nuestro país vecino al sur, Nicaragua que cuenta con 232 especies según Kohler (2004), Guatemala con 415 CNAP (2013) y El Salvador con 80, según Kohler *et al.* (2006). El país con más riqueza de especies en herpetofauna es Costa Rica, que cuenta con 438 especies de anfibios y reptiles, según Bolaños *et al* (2010).

En Honduras la mayoría de la diversidad herpetofaunística ocurre en formaciones de tierras bajas (bosque húmedo de tierras bajas, bosque seco de tierras bajas y bosque árido de tierras bajas) y en formaciones intermedias (bosque húmedo montano bajo) .(Köhler *et al* 2001).

Uno de los grupos mejor conocidos en Honduras es el que comprende a los reptiles y anfibios. Gracias a los grandes esfuerzos de investigadores como Gunther Köhler, James McCranie, Gustavo Cruz, Larry Wilson, Mario Solís y Josiah Townsend entre otros; se han descrito muchas especies nuevas para el país, también se han publicado trabajos sobre la ecología y distribución de estas especies. Los anfibios particularmente ocurren en mayor medida en bosques húmedos premontanos, bosque húmedo de tierras bajas y bosque húmedo montano bajo .(Köhler *et al* 2001) posiblemente debido a que estos organismos por su fisiología se adaptan mejor a sitios húmedos, la mayoría de anfibios que se encuentran en estos bosques tienen una distribución restringida para Centro América, otros solamente para Honduras y algunos solamente conocidos por su localidad tipo según Wilson y McCranie (2004). McCranie (2015) en su publicación sobre la herpetofauna hondureña, enlista: 2 clases, 6 órdenes, 49 familias, 151 géneros, y 401 especies. De ellos 2 géneros y 111 especies son endémicas. Por último, hay 4 géneros y 8 especies introducidas en su mayoría de manera accidental al territorio hondureño.

En el caso particular de los anfibios, Honduras cuenta con 137 especies, de las cuales 52 son endémicas (McCranie, 2015). Estos números han aumentado en los últimos 5 años con la reciente descripción de más especies endémicas como *Rana lenca* (Luque-Montes *et al.*, 2018), *Atlantihyla melissa* (Townsend *et al.*, 2020) *Bolitoglossa copinhorum* (Itgen *et al.*, 2019) e *Hypopachus guancasco* (Firreno *et al.*,2020) lo que presenta nuevos retos para entender la ecología y trabajar por la conservación de estos organismos.

En general el estado de las poblaciones de especies de anfibios y reptiles en Honduras pueden potencialmente cambiar relativamente rápido, debido a la pérdida y

degradación de hábitat provocado por el crecimiento de la población humana producto de lo que Wilson & McCranie (2004) llama una “mentalidad mal administrada”. Otra de las causas de la pérdida de la biodiversidad de anfibios en el país, al igual que en muchas partes del mundo es el hongo quítrido *Batrachochytrium dendrobatidis* que ha sido reportado en varias zonas de Honduras incluso en lugares alto grado de endemismo como Parque Nacional Pico Bonito y Parque Nacional Cusuco donde las poblaciones se han visto más afectadas según Kolby *et al.*,(2010).

1.1.3 El género *Rana* en Honduras.

Algunos de los clados de este género están muy cercanamente relacionados perteneciendo a dos grupos que divergieron en tiempos distintos, *Rana* sect. *Lithobates* hace aproximadamente 32 Ma y *Rana* sect. *Pantherana* aproximadamente 11 Ma (Yuan *et al.*, 2016). En estos grupos los cantos parecen jugar un importante rol en la especiación (Littlejohn y Oldham, 1968). En Honduras, el género estaba representado hasta 2018 por cinco especies; y *R. maculata* (Brocchi, 1877), *R. vaillanti* (Brocchi, 1877) y *R. warszewitschii* (Schmidt, 1857) pertenecientes al subgénero *Lithobates* y *R. brownorum* (Sanders, 1973), *R. forreri* (Boulenger, 1883) que pertenecen al subgénero mesoamericano de *Rana* sect. *Pantherana* (McCranie, 2015).

Se creía que existía un híbrido entre las especies *Rana brownorum* de la cuenca del Atlántico y *R. forreri* asociada a la vertiente pacífica; este supuesto híbrido se encontraba en las zonas altas entre los sitios de distribución de las otras dos especies, viviendo en simpatria con *R. brownorum* en algunas localidades y *R. forreri* en otras. Los padres putativos compartían algunas características, por el hecho de pertenecer al grupo *Pipiens* dentro de las *Pantherana* por lo que se consideraba plausible una hibridación, sin embargo su hábitat difiere y puede funcionar como una barrera reproductiva, Según McCranie y Castañeda (2007), *R. brownorum* se distribuye desde el nivel del mar hasta 1650 m de elevación, en formaciones de bosque que van desde bosque húmedo de tierras bajas, hasta bosque muy húmedo montano bajo, viviendo en los alrededores de estanques permanentes o temporales, pequeños lagos, pantanos y humedales, activos durante el día y la noche, aunque los machos solo cantan por la noche; es una especie de gran tamaño, con algunas hembras llegando a medir hasta 117 mm de longitud hocico-cloaca.

Por su parte *Rana forreri* es una especie de gran tamaño con hembras hasta de 94 mm (McCranie y Wilson, 2002). *Rana forreri* se encuentra a elevaciones que van desde los 35 a más de 1800 m en las formaciones boscosas desde el gbosque seco

de tierras bajas hasta la periferia del bosque húmedo premontano en los alrededores de estanques permanentes y temporales, humedales y quebradas con poca corriente. se diferencia morfológicamente de *R. brownorum* en que esta tiene las quillas dorsolaterales fragmentadas posteriormente e insertas medialmente (McCranie y Castañeda, 2007). Las diferencias morfológicas de estas dos especies con *Rana lenca* son bastante sutiles. Según Luque-Montes *et al.*, (2018) *R. lenca* presenta un menor tamaño (hembras hasta 60 mm) que sus congéneres y tiene una cabeza relativamente más larga y ancha.

Gracias al trabajo de Luque-Montes *et al.*, (2018) se logró reconocer a estos supuestos híbridos como una nueva especie, basado en modelado de nicho ecológico, análisis molecular y morfológico; además se analizó una breve descripción acústica del llamado de la nueva especie que se denominó *Rana lenca*. (Luque-Montes *et al.*, 2018) Este nombre se debe a que su distribución está restringida a las tierras de la etnia Lenca, un grupo de gran importancia cultural en el sur occidente del país (figura 3).



Figura 3. *Rana lenca*, comunidad de Las Trancas, Municipio de Opatoro, Departamento de La Paz, Honduras. (Fotografía Emmanuel Orellana).

1.3 JUSTIFICACIÓN

Los anfibios en Honduras son uno de los grupos más estudiados taxonómicamente; sin embargo, queda mucho por saber desde el punto de vista ecológico y de comportamiento. Al ser un taxón bastante dependiente del agua, este constituye un recurso limitante que puede generar interacciones que giren entorno a la disponibilidad de la misma, especialmente en época reproductiva.

Estas interacciones pueden ser exploradas desde distintas aristas; en el caso de los anuros, una de ellas, quizá la más importante desde el punto de vista reproductivo, es la bioacústica. Los cantos en las ranas tienen entre otras funciones la de servir como un mecanismo de discriminación conespecífico, es decir pueden indicarle al individuo que escucha, si el canto proviene de un macho de la misma especie e incluso el tamaño del emisor.

En 2018 Luque y colaboradores describieron una nueva especie de *Rana* para las tierras altas del suroccidente y parte del sur oriente de Honduras. El análisis morfológico reflejó diferencias mínimas, por lo que se considera a la nueva especie *Rana lenca* como una especie críptica. Dado que la especie *R. lenca* es de reciente descripción, conocemos muy poco sobre sus poblaciones y sobre sus interacciones con otras especies, este trabajo se propone generar información al respecto, enfocado en la descripción del canto de este anfibio y comparándolo con el de uno de sus especies afines y anterior padre putativo, *Rana forreri*.

1.4 HIPOTESIS

1. Premisa: Considerando que se ha demostrado que la temperatura del ambiente parece tener efectos significativos en ciertos parámetros de los llamados como el ancho de banda y duración de las notas (Rodríguez *et al.*, 2017); (Höbel, 2005) y al encontrarse las poblaciones de las dos especies estudiadas a alturas distintas, lo que implica temperaturas distintas.

Predicción: Se encontrarán diferencias en parámetros temporales como la duración de los llamados en *Rana forreri* y *Rana lenca*.

2. Premisa: Considerando que el tamaño del anuro que emite los llamados es un factor que puede influenciar la frecuencia de las notas, volviéndolas más agudas en

individuos más pequeños (Narins y Smith, 1986) y tomando en cuenta que *Rana lenca* es en promedio más pequeña que *Rana forreri* Luque-Montes *et al.*, (2018).

Predicción: Los llamados de *Rana lenca* presentarán frecuencias que en promedio serán más altas que en *Rana forreri*.

3. Premisa: Considerando que según el concepto unificado de especie de De Queiroz (2007), una especie es una hipótesis de relaciones en la que la filogenia, morfología, ecología, biogeografía y en este caso el canto puede o no apoyar dicha hipótesis.

Predicción: Los parámetros de canto encontrados en *Rana lenca* serán evidencias que apoyen la hipótesis de que es una especie diferente a *Rana forreri*.

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 Objetivo general

Conocer las diferencias desde el punto de vista bioacústico, de existir, entre dos especies del género *Rana* (*R. forreri* y *R. lenca*) en dos áreas de su distribución en Honduras.

1.5.2 Objetivos específicos

- Identificar sitios donde se encuentran las dos especies de interés.
- Generar un registro acústico de dos especies del género *Rana* (*R. forreri* y *R. lenca*) en dos localidades de Honduras.
- Describir el canto de *Rana lenca*.
- Analizar estadísticamente los parámetros medibles en los llamados de las dos especies de interés, para identificar cuáles de estos parámetros varían entre especies.

CAPITULO II

MATERIALES Y MÉTODO

2.1 INTRODUCCIÓN

El estudio de la bioacústica se ha abordado desde varios enfoques en las ciencias biológicas, el enfoque etológico que se centra en el comportamiento de los organismos y los estímulos que pueden desencadenar una señal acústica o las consecuencias que esta trae sobre su emisor y sobre el receptor, un punto de vista ecológico trata de responder cuestionamientos sobre la utilidad de las señales acústicas en la defensa del territorio, atracción de posibles parejas reproductivas y la energía que los organismos invierten en estas actividades.

La utilidad taxonómica de las señales bioacústicas también es notable, en varios grupos de organismos al ser considerado este uno de los mecanismos de aislamiento reproductivo, es estudiado en insectos, mamíferos y principalmente aves y anfibios, estos últimos han estado cobrando importancia en los últimos años, en trabajos como los de Funk *et al.*, (2008) Townsend *et al.*, (2020) Rodella Manzano *et al.*, (2022) entre otros donde se reconoce la importancia de los llamados de anuros en la descripción de nuevas especies así como la distinción taxonómica de especies que son consideradas crípticas.

Constantemente se generan nuevas herramientas para la recolección y el análisis de datos acústicos, tal es el caso de micrófonos unidireccionales, micrófonos con aditamentos para captar mejor el sonido de animales en movimiento y con muy alta frecuencia como en aves o murciélagos, hidrófonos para captar señales de animales acuáticos, programas de análisis de sonidos como Audacity o Raven son herramientas con un interfaz amigable para el análisis cualitativo y cuantitativo de los cantos, incluso paquetes estadísticos en la plataforma de R se desarrollan con este fin, tal es el caso del paquete SeeWave.

En el estudio acústico los términos y los parámetros pueden en ocasiones resultar un poco confusos, ya que se utilizan muchos conceptos que tienen que ver con la física, como frecuencia dominante, modulación de frecuencia, espectro de poder, oscilograma entre otros, afortunadamente el trabajo de Köhler *et al.*, (2017) realiza un compendio de lo que conlleva el estudio bioacústico específicamente en anuros, en esta publicación condensa en una tabla los términos importantes en esta disciplina de estudio. A continuación, se presenta una adaptación al español de algunos de ellos

que son útiles para la mejor comprensión de los datos presentados en esta tesis (Tabla 1).

2.2 ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

2.2.1 Selección de sitios

Utilizando el mapa de nicho fundamental generado en el trabajo de Luque-Montes *et al.* (2018) se identificaron los sitios donde es más posible encontrar *Rana forreri* y *R. lenca* y se identificaron una serie de puntos geográficos para decidir qué localidades son de más fácil acceso para definir las como punto de muestreo.

Siguiendo estos lineamientos las localidades elegidas fueron la reserva biológica Uyuca, ubicada entre los municipios de San Antonio de Oriente y Tatumbula en el departamento de Francisco Morazán. Dentro de esta reserva se encuentra una población de *Rana lenca* habitando en una laguna que está a unos 1700 m en un bosque de pino.

La segunda localidad es un conjunto de lagunas ubicadas en el valle del Zamorano al oriente de la reserva biológica Uyuca; este sitio se conoce como “Las Canteras del Zamorano” y tienen una población de *Rana forreri* viviendo a unos 850 m.

2.2.2 Grabación de llamados

Usando una grabadora Olympus WS-802 calibrada a 44.1 KHz y 16 bits de resolución y un micrófono Senheiser unidireccional se realizaron grabaciones y se registró la temperatura y humedad en todos los sitios, mediante un medidor meteorológico manual Kestrel 3000. El trabajo de campo se realizó entre los meses de julio a octubre de 2021, los meses con mayor actividad de canto de estos anfibios, comenzando con una gira al cerro Uyuca donde se encuentra *Rana lenca* el 18 de julio, el mes de agosto fue de muy pocas lluvias por lo que la actividad acústica sería demasiado baja como para realizar una gira, el 20 y 29 de septiembre se realizaron las dos giras a las canteras de El Zamorano, sitio donde se encuentra *Rana forreri*, la segunda gira al cerro Uyuca se llevó a cabo el 01 de octubre de 2021.

Las grabaciones fueron realizadas comenzando a las 20:00 y terminando a las 0:00, horario de mayor actividad de estos anuros (observación personal).

La metodología consiste en acercarse a un macho que esté emitiendo llamados, esperar unos minutos a que este se acostumbre a la presencia humana y realizar la grabación usando un extensor de micrófono, este permite ubicarse a unos dos metros del individuo para perturbar lo menos posible su canto. Una vez realizada la grabación

se toman los parámetros de temperatura y humedad ambiental en el sitio donde el anfibio estaba cantando.

2.2.3 Procesamiento de los cantos

Se utilizó el programa de acceso libre Audacity para eliminar en la medida de lo posible los ruidos que se encontraban fuera del rango de amplitud de los cantos mediante la aplicación de un filtro de paso alto de 350 Hz y un filtro de paso bajo de 3500 Hz. Esto ayudó a reducir el ruido que se encontró bajo una frecuencia de 350 Hz y los que se encontraban sobre frecuencias de 3500 Hz (dentro de estos rangos se encuentran los cantos de los anuros estudiados). Luego de la limpieza, los cantos fueron analizados usando el programa Raven Pro 1.6 que es un software desarrollado por el laboratorio Cornell para el análisis de cantos de aves y resulta útil para anfibios de igual manera.

Dado que los cantos de estas ranas se presentaron en tres tipos distintos, snore, chuckles y grunts (Hillis y Wilcox, 2005), se realizó una distinción entre estos, siendo tomados por separado y para cada canto se tomaron los siguientes parámetros:

Tipo de canto (S, C, G), número de notas, frecuencia dominante (kHz), frecuencia más baja (Hz), frecuencia más alta (Hz), duración del canto (s), número de notas por canto y tasa de repetición de notas, adicionalmente los datos ambientales fueron temperatura (°C) y humedad (%).

2.2.4 Análisis estadístico

En el programa estadístico R Se aplicó una prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov que se usa cuando se necesita comprobar si los datos de una base de más de 50 muestras siguen una distribución normal.

A la base de datos se le aplicó una estandarización de los valores numéricos para asegurarse que estos estuvieran escalados; posteriormente se aplicó una PERMANOVA para comparar la varianza existente dentro de los grupos con la varianza entre grupos.

Se usó un análisis de componentes principales (PCA), el cual es una técnica descriptiva que permite estudiar las relaciones que existen entre las variables cuantitativas, este análisis describe un conjunto de datos en términos de nuevas variables “componentes” no correlacionadas. Los componentes se ordenan por la cantidad de varianza original que describen, por lo que la técnica es útil para reducir la dimensionalidad de un conjunto de datos. (Walton, 1992) Asimismo, se realizó un

análisis de variante canónica (CVA) el cual es un tipo de análisis discriminante que crea un modelo predictivo para la pertenencia a un grupo, de esta manera se puede saber cuáles de los componentes son responsables de la mayoría de la variación, se crearon gráficos de varianza para visualizar las diferencias entre cada una de las variables físicas en los cantos.

Tabla 1. Glosario de términos usados para describir vocalizaciones animales enfocadas en anuros. Adaptado de (Köhler *et al.*, 2017).

Término	Definición/Comentarios
Amplitud del sonido	Diferencia entre la presión máxima (corresponde al pico de la onda de sonido) y la presión ambiental. Proporcional a la intensidad del sonido. La amplitud se puede comparar entre grabaciones obtenidas en condiciones estandarizadas (mismo equipo de grabación con la misma configuración de nivel, mismo ángulo y misma distancia al emisor de sonido).
Ancho de banda	Rango total de frecuencias presentes en el sonido emitido. El ancho de banda total suele ser difícil de medir en grabaciones naturales. Las mediciones se pueden realizar más fácilmente a un nivel de umbral dado que debe especificarse y mantenerse constante en todas las mediciones con fines comparativos
Duración de la llamada	La duración de una sola llamada, sin importar si se compone de notas únicas o múltiples; medida desde el principio hasta el final de la llamada.
Duración de notas	La duración de una sola nota dentro de un canto; medida desde el inicio hasta el final de la nota.
Duración del pulso	La duración de un pulso, medida desde un mínimo de amplitud hasta el siguiente mínimo de amplitud. Como el ruido de fondo puede enmascarar estos mínimos, se puede aplicar un umbral de amplitud (es decir, % del máximo) para que las mediciones sean comparables.
Espectrograma	Una representación visual de un sonido, que muestra la frecuencia y la amplitud del sonido a lo largo del tiempo.
Frecuencia de sonido	Número de ciclos de oscilación de ondas sonoras por unidad de tiempo; los ciclos por segundo se miden en Hertz (Hz) o kiloHertz (kHz = 1,000 Hz)
Frecuencia dominante	La frecuencia pico de la llamada (o nota); la frecuencia que contiene la energía de sonido más alta (en Hz o kHz).
Grupo de llamadas	Las llamadas pueden organizarse en grupos que están separados de otros grupos similares por períodos de silencio mucho más largos que los intervalos entre llamadas; los intervalos entre llamadas dentro de los grupos son estables o cambian en un patrón predecible
Grupo de notas	Las notas pueden organizarse en grupos que están separados de otros grupos similares por períodos de silencio que son más largos que los intervalos entre notas en un grupo; el espaciado de las notas dentro de los grupos es regular o cambia en un patrón predecible
Intervalo entre llamadas	El intervalo entre dos llamadas consecutivas, medido desde el final

	de la llamada hasta el comienzo de la llamada consecutiva.
Intervalo entre notas	El intervalo entre dos notas consecutivas dentro de la misma llamada, medido desde el final de una nota hasta el comienzo de la nota consecutiva.
Llamada	Una unidad acústica de vocalización de rana, un sonido distinto; una llamada está separada de otras llamadas por períodos de silencio (normalmente mucho más largos que la llamada); la duración de las llamadas de un tipo suele ser consistente y regular; una llamada puede emitirse únicamente (es decir, no como parte obligatoria de una serie); El siguiente nivel superior de elemento acústico es el grupo de llamada o la serie de llamadas. Puede estar compuesto por una o varias notas del mismo tipo (llamada simple) o de diferentes tipos de notas (llamada compleja).
Longitud de honda	Período de una onda: distancia a la que se repite la forma de una onda. La longitud de onda es inversamente proporcional a la frecuencia.
Nota	Subunidad principal de una llamada. Las llamadas a menudo se dividen en subunidades más pequeñas (= notas) mediante una modulación de amplitud del 100% con solo intervalos cortos entre ellas en relación con la duración de la llamada. Las llamadas también pueden consistir en una sola nota. Las notas pueden subdividirse en pulsos.
Oscilograma	Es una representación visual de un sonido, mostrando cambios en amplitud a través del tiempo.
Pulso	Un solo estallido de energía sonora, no subdividido en subunidades, separado por una fuerte modulación de amplitud de otros pulsos. La modulación de amplitud suele ser inferior al 100 %; por lo tanto, los pulsos en las llamadas de los anuros a menudo no están separados por un intervalo completamente silencioso debido a las propiedades intrínsecas de la llamada.
Tasa de muestreo	Número de medidas de amplitud tomadas por segundo al digitalizar una onda de sonido (por ejemplo, una frecuencia de muestreo de 44,1 kHz da como resultado 44 100 muestras de medidas de amplitud por cada segundo).
Tasa de repetición de notas	Número de notas repetidas dentro de un período de tiempo definido dentro de una llamada o serie de notas. El valor debe proporcionarse en notas por segundo.
Tipo de llamada	Una categoría de vocalizaciones emitidas en un contexto social particular y una función particular (reproductiva, agresiva, defensiva). El repertorio de llamadas de algunas especies puede consistir en más de un tipo de llamada de advertencia.
Tipo de nota	Una llamada puede consistir en notas muy similares dispuestas de forma estereotipada o más compleja (un tipo de nota = llamadas simples). Pero las notas también pueden diferir entre sí en propiedades temporales, espectrales y/o energéticas y se pueden definir diferentes tipos de notas (más de un tipo de nota = llamadas complejas).
Vocalización	Cualquier tipo de sonido producido por los animales por medio de su sistema respiratorio, típicamente por la acción de las cuerdas vocales, independientemente de su categorización (canto, llamada) o estructura (tonal, pulsátil, pulsada, etc.). Algunos sonidos de animales se producen utilizando diferentes mecanismos y, por lo tanto, no califican como vocalizaciones bajo esta definición

CAPITULO III

3. RESULTADOS

3.1 obtención de muestras

Debido a los problemas surgidos por la pandemia del COVID-19 que en Honduras tuvo repercusiones hasta la segunda mitad del año 2021, las salidas para toma de muestras fueron muy restringidas. Así, con el apoyo de personal de la Universidad Agrícola El Zamorano, se logró realizar una gira de dos días en el mes de julio a la reserva biológica Uyuca, esta reserva es manejada por la institución y en sus alrededores se encuentra una laguna con una población de *Rana lenca* (figura 4), la única especie que se encontró viviendo en la misma laguna fue *Smilisca boudinii*, pero sus cantos no se traslapaban pues *S boudinii* estuvo activa en horas más tempranas.

En esta laguna se realizaron varias grabaciones de las cuales al ser depuradas se lograron contabilizar 93 cantos entre ellos se identificaron 36 chukcles, 35 snores y 22 grunts, se realizó una segunda gira el 01 de octubre a la misma localidad, pero debido posiblemente a que no hubo lluvias y que el periodo de reproducción estaba concluyendo no se registró ninguna grabación que fuera útil para este estudio.

El segundo sitio de muestreo llamado en la zona como “Las canteras del Zamorano” Figura 2.2.2, es un predio propiedad de la misma universidad, comprende un conjunto de pequeñas lagunas que se han formado como producto de la extracción de material del área (Figura 5). Aquí *Rana forreri* se encontró en simpatria con otras especies como *Scinax staufferi*, *Dendropsophus microcephalus* y *Rhinella horribilis*. A esta localidad se realizaron dos giras, una comenzando el 20 de septiembre, en estos días aún había leves lluvias y se logró tomar algunas grabaciones, aunque fueron menos que las realizadas para *Rana lenca*, después de la depuración de las grabaciones se contabilizaron 64 cantos entre los que se encuentran 17 Chukcles, 15 Snores y 32 Grunts, en la segunda gira del 29 de septiembre al igual que el caso de Uyuca, no se grabaron cantos de *R. forreri*, ya que esta no se encontraba cantando.



Figura 4. Laguna ubicada en Reserva Biológica Uyuca foto: Emmanuel Orellana



Figura 5. Una de las lagunas ubicada en Las Canteras del Zamorano Foto: Emmanuel Orellana.

3.1.2 Espectrogramas

Ambas especies emitieron llamados con características acústicas relativamente similares, sin embargo, la llamada de *Rana lenca* fue en promedio ligeramente más aguda en todos los tipos de canto (C= 3252.5 G=2408.8 S=2851.5 Hz) comparada con *Rana forreri* (C= 2857.3 G=1622.6 S=2704.9 Hz) (tabla 2).

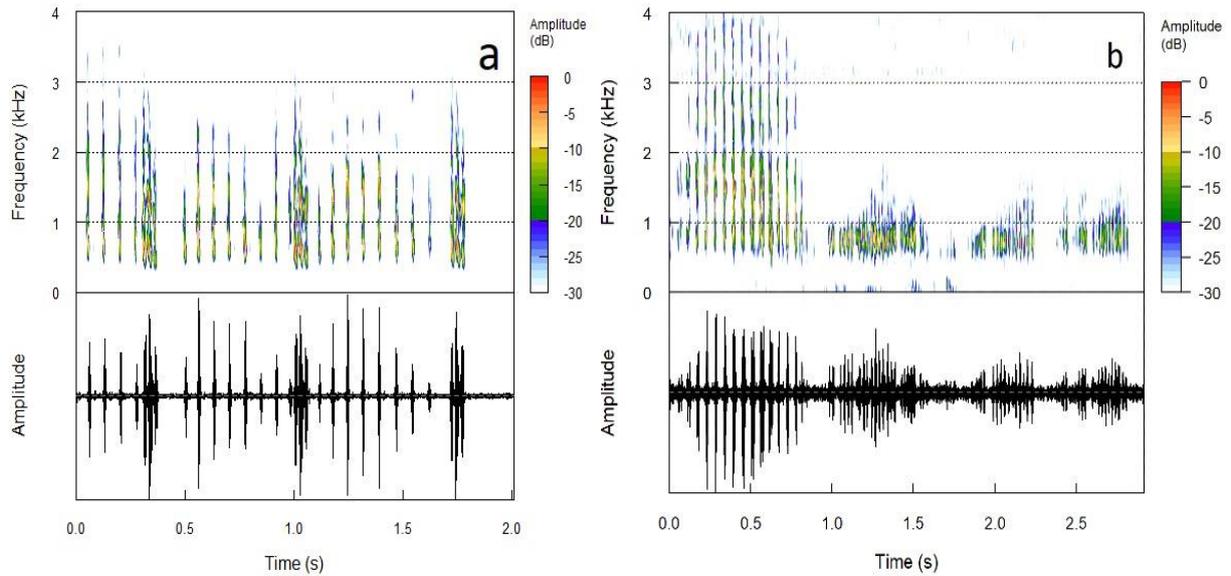


Figura 6. Espectrograma (arriba) y oscilograma (abajo) de cantos de (a) *Rana lenca*, julio de 2021 temperatura= 18 °C humedad del aire= 83% y (b) *Rana forreri* septiembre de 2021 temperatura= 21 °C humedad= 80%. Parámetros del espectrograma: ancho de ventana= 512 traslape=90% Figura creada con el paquete de R "seewave".

En el espectrograma de *R. lenca*, el canto comienza con un Snore seguido por un chukcle; ese patrón se observa tres veces (SCSCSC) el tipo de canto que más se registró en esta especie fue el C= 38.7% seguido por el S=37.6% por lo que el espectrograma refleja estos datos, el tercer tipo de canto se registró en menor medida G=23.6% y aparece esporádicamente entre los grupos de cantos.

El espectrograma de *R. forreri* comienza también con un Snore que presenta claramente una menor distancia entre notas y una frecuencia más alta comparado con la otra especie, este canto es seguido por una serie de tres Grunts (SGGG), el tipo de canto que más se registró en esta especie fue el G= 50% seguido por C=26.5% y S=23.4% (figura 6).

Tabla 2. valores promedio de los parámetros medidos para ambas especies de *Rana* NN= número de notas, DT= delta time (S), NRR= tasa de repetición de notas, LF= frecuencia más baja (Hz), HF=frecuencia más alta (Hz) DF= delta frequency (Hz), PF= frecuencia pico (Hz), T= temperatura (°C) y H=porcentaje de humedad (%).

Especie	Type	NN	DT	NRR	LF	HF	DF	PF	T	H
Rana lenca	C	5,1944	0,4217	13,929	302,0716	3252,517	2950,825	712,985	18,4236	83,3181
	G	4,6818	0,2675	18,9627	297,8672	2408,883	2111,049	651,4354	18,4236	83,3181
	S	2,9714	0,1961	25,968	273,0158	2851,506	2578,465	681,6762	18,4236	83,3181
Rana forreri	C	1,81	0,2662	9,3279	306,0363	2857,343	2551,312	909,7732	21,3	80
	G	3,27	0,3977	8,5321	338,6123	1622,65	1284,051	733,433	21,3	80
	S	10,875	0,6232	17,45026	326,3498	2704,951	2378,613	968,9593	21,3	80

classification result in frequencies

```

      C  G  S
C 33 11  9
G  7 41  6
S 12 12 26
    
```

classification result in %

```

      C      G      S
C 62.264 20.755 16.981
G 12.963 75.926 11.111
S 24.000 24.000 52.000
    
```

overall classification accuracy: 63.69427 %

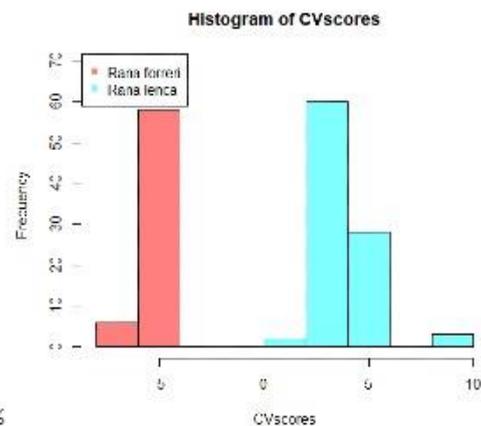


Figura 7. El análisis canónico de variables (CVA) muestra una diferencia en las especies basado en comparaciones de sus tres tipos de canto.

3.1.3 Pruebas estadísticas

Al realizar el análisis PERMANOVA para comprobar si existía alguna diferencia entre los llamados de las especies, un valor de $P=0.001$ reveló que si existe una diferencia significativa entre las variables medidas por especie. Estas diferencias se ven reflejadas en algunos de los parámetros individuales mostrados en la figura 9.

Un análisis de componentes principales mostró que el CP1 explica aproximadamente el 31.6% de la variación seguido por el CP2 que explica aproximadamente el 24.7% (Figura 8.)

El CVA (análisis canónico de variables) mostró una precisión de clasificación general del 63.69% al comparar los distintos tipos de canto en las especies, siendo capaz de diferenciar entre las dos especies excepto por uno de los cantos de *Rana forreri* que se ve agrupado cercanamente a los parámetros de *Rana lenca* (figura 7)

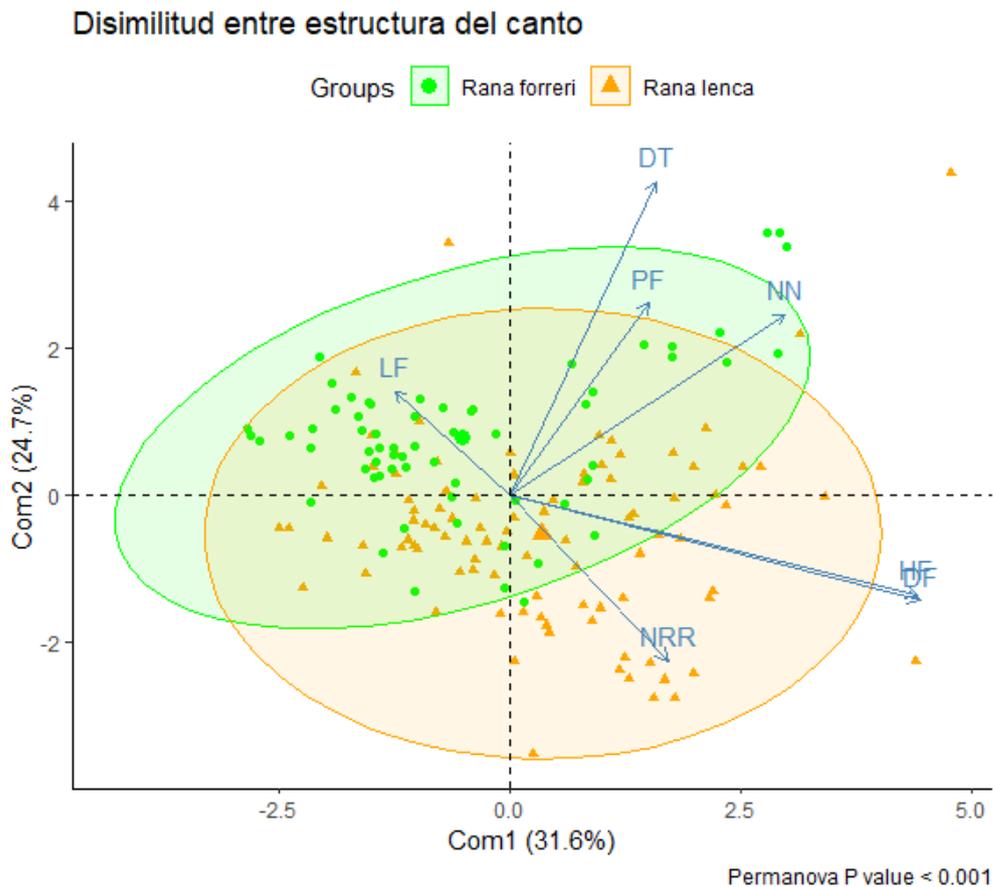


Figura 8 porcentaje de variación explicado por los componentes principales.

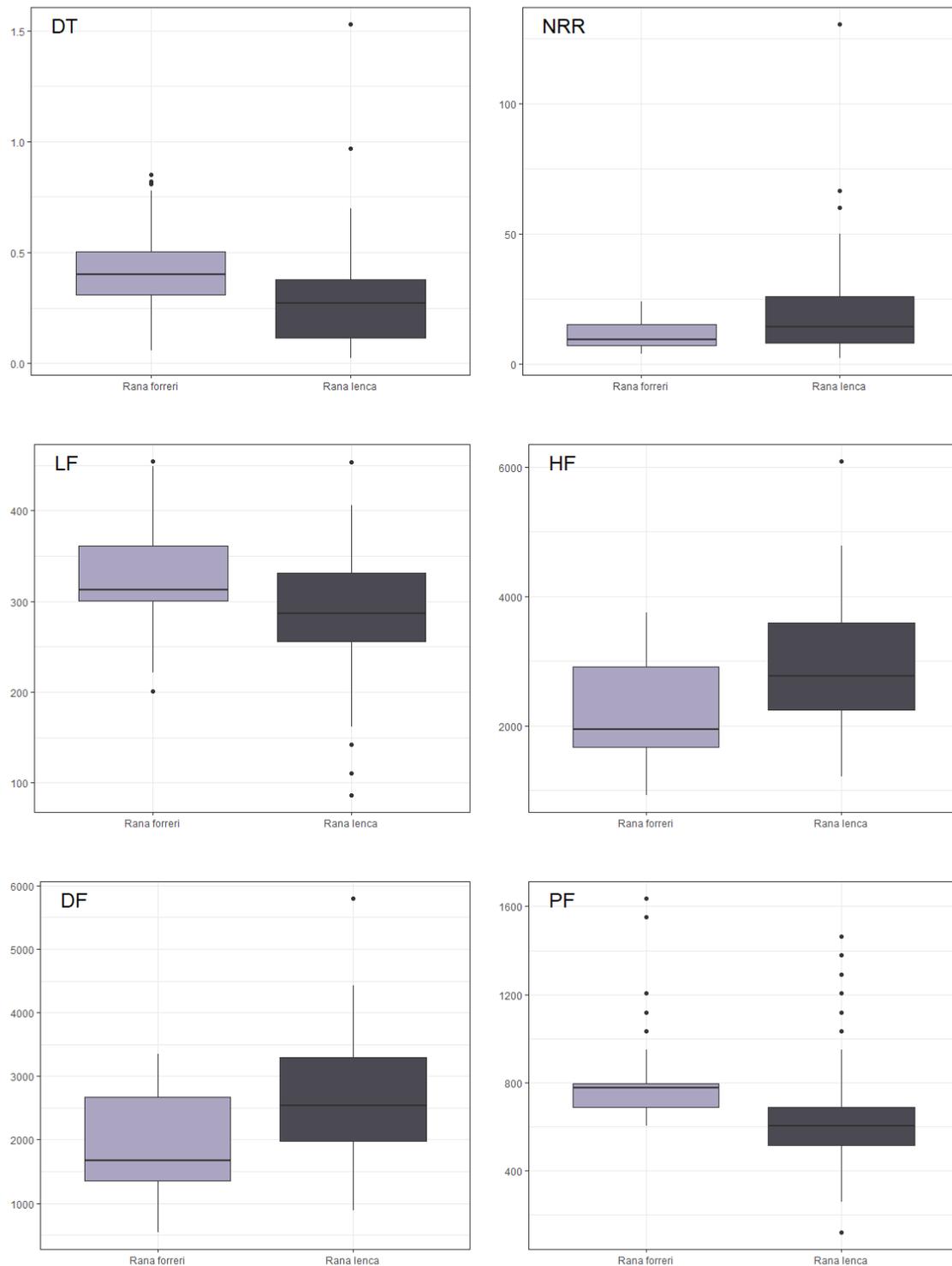


Figura 9. Diferencias en parámetros físicos individuales de los cantos de *Rana forreri* y *Rana lenca*. DT= delta time, NRR=tasa de repetición de notas, LF= frecuencia más baja, HF=frecuencia más alta, DF= Delta 8, PF= frecuencia pico.

CAPITULO IV

4 DISCUSIÓN

4.1 Diferencias en los cantos

Aunque no todas las especies de anuros difieren grandemente entre sí en sus llamados, no hay duda de que en general, el grado de divergencia bioacustica entre especies excede la divergencia dentro de las especies (Köhler *et al.*, 2017). Los estudios recientes sugieren que los llamados de advertencia efectivamente proveen características útiles para desenmarañar la identidad de especies en un grupo de anuros (Angulo y Reichle, 2008).

Las diferencias en los llamados de especies cercanamente relacionadas pueden ser del tipo cualitativo, esto implica que dichas diferencias son fácilmente apreciadas en un espectrograma y un oscilograma, ya sea por presentar un número de notas diferente, una variación notable entre la frecuencia más baja y la más alta (delta frequency), lo que presentaría un espectrograma más ancho a la vista o también puede ser un llamado más largo en el tiempo (delta time) estas diferencias al ser más notables facilitan la interpretación de los datos llegando a suponer casi inmediatamente que pertenecen a especies distintas.

En otros casos, las especies pueden presentar diferencias más sutiles que son de tipo cuantitativo, variaciones que pueden ser percibidas por los anuros pero que no son tan notables como las cualitativas para nuestro oído; estas se pueden dar incluso dentro de la misma especie. (Narins y Smith, 1986) realizaron un estudio de variación altitudinal del llamado de *Eleutherodactylus coquí* (Thomas, 1966) en una región de Puerto Rico tomando grabaciones de individuos de la zona baja de la montaña para luego reproducirlas en las poblaciones de la zona alta y viceversa, notando que los individuos responden mejor a los llamados de sus conespecíficos que se encuentran en un rango altitudinal similar, el pequeño incremento en la frecuencia del canto de las poblaciones a mayor altura podría deberse al menor tamaño de los individuos, ya que son características correlacionadas. En el caso de *Rana lenca* y *R. forreri* como se mencionó anteriormente. hay una ligera diferencia en los tamaños de ambas especies, siendo *R. forreri* más grande en promedio (hembras hasta 94 mm LHC) versus los 60

mm LHC promedio de *R. lenca*, esto puede ser un factor que influya en la diferencia de frecuencias.

Además del tamaño de los individuos, otro factor que tiene cierto nivel de incidencia sobre los llamados en algunos anuros es la temperatura. Ha sido demostrado por (Rodríguez *et al*, 2017) que la temperatura muestra efectos estadísticos significativos en duración del canto y en ancho de banda en dos especies de rana de Cuba, *Eleutherodactylus glamyrus* (Estrada y Hedges, 1997) y *Eleutherodactylus cattus* (Rodríguez, 2017), datos parecidos fueron reportados en *Eleutherodactylus fitzingeri* (Schmidt, 1857) en el cual se registró que un aumento de la temperatura puede reducir la duración del intervalo entre notas (Höbel, 2005). En *Rana forreri* se observa un menor intervalo entre notas que en su especie hermana, sin embargo, la llamada en total resulta ser más larga, ya que, si bien el intervalo es más corto, el número de notas es mayor en *R forreri*, estas diferencias pueden, al igual que en otros anuros, estar influenciadas por la temperatura, tomando en cuenta que la diferencia promedio entre los sitios donde fueron grabadas ambas especies es de unos tres grados Celsius. De todas maneras, se requieren más grabaciones y un análisis estadístico encaminado a comprobar la supuesta influencia de la temperatura y definir que otros parámetros interactúan con esta.

El tipo de canto que más se registró en *Rana lenca* fue el Chuckle; este tipo de canto puede estar más relacionado con conductas territoriales, en contraste con los Snore que se asocian con intenciones reproductivas según Larson (2004). Esta pequeña tendencia podría deberse a que la laguna donde fue grabada *R. lenca* era más pequeña que las lagunas donde se encontró a *R. forreri*, la menor disponibilidad de espacio puede propiciar conductas más agresivas en los individuos. La secuencia de los tipos de canto y la tasa de repetición de los mismos es algo que sigue aún en discusión en especies con llamados tan complejos como las que se comparan en este estudio.

4.2 Especies crípticas

Al ser las especies del grupo *Pantherana* tan parecidas es muy difícil distinguirlas entre sí. Por ejemplo, *R. brownorum* y *R. forreri* difieren morfológicamente en algunas pequeñas características como la presencia de unas quillas a lo largo de su dorso (McCranie y Castañeda, 2007) aunque estas no siempre son tan claras; entre *R. lenca* y *R. forreri* las diferencias son incluso más sutiles, llegando a ser casi imperceptibles, siendo identificadas en mayor medida por su ubicación geográfica, establecer

diferencias perceptibles en sus llamados contribuye a una mejor identificación taxonómica de los individuos, especialmente en localidades donde se encuentran en simpatría donde la ubicación geográfica no es útil para diferenciarlos.

4.3 Especies en simpatría

Las diferencias marcadas en los llamados pueden ser comunes cuando se consideran especies que no son cercanas filogenéticamente, sin embargo, este no siempre es el caso en especies hermanas que tienden a exhibir patrones espectrales y temporales similares (Marquez y Bosch, 1995) Se espera que especies con un ancestro común reciente muestren poca divergencia en su comportamiento y en sus llamados (Toledo *et al.*, 2015).

Aunque las diferencias en los llamados de las dos especies de *Rana* son suficientes para poder distinguirlas entre sí, surge la duda si estas diferencias podrían ser incluso mayores cuando las especies se encuentran en simpatría como ocurre en algunas localidades como la Reserva Biológica Monserrat cerca de los sitios de este estudio. Se predice que las especies congénicas en simpatría experimentan una selección que favorece una mayor divergencia de llamadas que las especies en alopatría. Como las especies alopátricas pueden no compartir nichos acústicos, no habría selección contra la hibridación por mala interpretación de las señales acústicas y, en consecuencia, las presiones selectivas (como las mencionadas anteriormente) no se producen (Toledo *et al.*, 2015).

En corroboración de estas predicciones Marquez *et al.* (1993) mostraron que en algunas especies de ranas Hylidae (actualmente en los géneros *Dendropsophus* e *Hypsiboas*), las llamadas eran menos similares cuando los pares de especies eran simpátricos, en comparación con las especies alopátricas. Por otro lado, Toledo (2015) no encontró evidencia que apoye la existencia de una presión selectiva actuando a escala regional en su estudio comparativo con especies del género *Sphaenorhynchus*, por lo que podría haber un patrón generalizado de divergencia de llamadas en simpatría, pero todavía no está completamente documentado en la literatura sobre anfibios.

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

5.1 Conclusiones

Tomando en cuenta las diferencias acústicas entre las poblaciones de *Rana lenca* y *R. forreri* que fueron estudiadas y comparándolas con análisis bioacústicos en otras especies de anuros se puede concluir que los llamados en estas dos especies son lo suficientemente diferentes para considerarlos grupos distintos desde el punto de vista acústico, apoyando los resultados genéticos, morfológicos y de nicho ecológico de (Luque-Montes et al., 2018). Las disimilitudes en los llamados de estas especies pueden deberse a factores como la diferencia de hábitat, temperatura, tamaño de los individuos entre otras, no necesariamente relacionados con una presión selectiva encaminada a prevenir la hibridación como las poblaciones que viven en simpatria.

Es muy importante seguir realizando grabaciones de ambas especies de *Rana* para generar datos que contribuyan a esclarecer preguntas relacionadas con los factores que afectan los diferentes llamados, así como incluir también datos acústicos de la otra especie muy cercanamente relacionada (*Rana brownorum*) que por motivos logísticos y económicos no pudo ser incluida en este estudio.

5.2 Perspectivas

Este trabajo aportó un panorama general sobre un aspecto fundamental en la reproducción de los anuros, sus llamados y en específico de estas dos especies crípticas cuya mejor manera de identificar es por su ubicación geográfica y sus llamados. Sin embargo, es importante tener más detalles de las condiciones en las que se emiten dichos llamados, realizar muchas más grabaciones para que los datos sean más robustos, realizar experimentos de playback para medir las respuestas de cada especie a los llamados de la otra y conocer los cambios en los llamados de diferentes poblaciones con el fin de determinar el grado de disimilitud dentro de la misma especie.

En el futuro se espera que sea posible realizar un análisis comparativo de los llamados de estas especies en simpatria, para responder preguntas sobre las presiones evolutivas a las que estas se enfrentan en esas condiciones y contrastarlas con los

llamados en alopatría, para lo que será necesario establecer un protocolo para poder distinguirlos en campo. Asimismo, es importante generar una base de datos de grabaciones de llamados de las especies de anuros de Honduras que sirva como línea base para futuros estudios comparativos y de descripción de cantos que contribuyan al mejor entendimiento de este grupo de vertebrados en el país.

BIBLIOGRAFÍA

- Angulo, A., & Reichle, S. (2008). Acoustic signals, species diagnosis, and species concepts: The case of a new cryptic species of *Leptodactylus* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) from the Chapare region, Bolivia (Zoological Journal of the Linnean (2008) 152:1 (59-77)). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 152(3), 623. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2008.00447.x>
- Caldwell, M. S., Johnston, G. R., McDaniel, J. G., & Warkentin, K. M. (2010). Vibrational signaling in the agonistic interactions of red-eyed treefrogs. *Current Biology*, 20(11), 1012–1017. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.03.069>
- Cardoso, A. J., & Heyer, W. R. (1995). Advertisement, aggressive and possible seismic signals of the frog *Leptodactylus syphax* (Amphibia, Leptodactylidae). In *Alytes* (Vol. 13, Issue 2, pp. 67–76).
- De Queiroz, K. (2007). Species concepts and species delimitation. *Systematic Biology*, 56(6), 879–886. <https://doi.org/10.1080/10635150701701083>
- De Souza, M. B., & Haddad, C. F. B. (2003). Redescription and reevaluation of the generic status of *Leptodactylus dantasi* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) and description of its unusual advertisement call. *Journal of Herpetology*, 37(3), 490–497. <https://doi.org/10.1670/259-01A>
- Firreno, T. J., Itgen, M. W., Jacobs, J. L., Mcdaniels, C. X., Luque-Montes, I. R., Wilson, L. D., & Townsend, J. H. (2020). Integrating phylogenetics, morphology, and osteology to delimit a new species of endemic montane sheep frog (Microhylidae: *Hypopachus*) from the Lenca Highlands of Honduras. *Systematics and Biodiversity*, 19(2), 186–208. <https://doi.org/10.1080/14772000.2020.1841325>
- Funk, W. C., Angulo, A., Caldwell, J. P., Ryan, M. J., & Cannatella, D. C. (2008). Comparison of morphology and calls of two cryptic species of *Physalaemus* (Anura: *Leiuperidae*). *Herpetologica*, 64(3), 290–304. <https://doi.org/10.1655/08-019.1>
- Gerhardt, H. C. (1994). Reproductive character displacement of female mate choice in the grey treefrog, *Hyla chrysoscelis*. *Animal Behavior*, 47(4), 959–969. <https://doi.org/https://doi.org/10.1006/anbe.1994.1127>
- Hillis, D. M., & Wilcox, T. P. (2005). Phylogeny of the New World true frogs (*Rana*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 34(2), 299–314. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2004.10.007>
- Höbel, G. (2005). On the acoustic communication system of *Eleutherodactylus fitzingeri* (Anura: Leptodactylidae). *Herpetological Review*, 36(3), 242–244.
- Itgen, M. W., Sessions, S. K., Wilson, L. D., & Townsend, J. H. (2019). Integrative Systematic Revision of *Bolitoglossa celaque* (Caudata: Plethodontidae), with a new species from the Lenca Highlands of

- Honduras. *Herpetological Monographs*, 33(1), 48–70. <https://doi.org/10.1655/HERPMONOGRAPHS-D-19-00001.1>
- Köhler, G., McCranie, J. R., & Wilson, L. D. (2001). A new species of anole from western Honduras (Squamata: Polychrotidae). *Herpetologica*, 57(3), 247–255.
- Köhler, J., Jansen, M., Rodríguez, A., Kok, P. J. R., Toledo, L. F., Emmrich, M., Glaw, F., Haddad, C. F. B., Rödel, M. O., & Vences, M. (2017). The use of bioacoustics in anuran taxonomy: Theory, terminology, methods and recommendations for best practice. In *Zootaxa* (Vol. 4251, Issue 1). <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4251.1.1>
- Kolby, J. E., Padgett-Flohr, G. E., & Field, R. (2010). Amphibian chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* in Cusuco National Park, Honduras. *Diseases of Aquatic Organisms*, 92(2–3), 245–251. <https://doi.org/10.3354/dao02055>
- Larson, K. A. (2004). Advertisement call complexity in northern leopard frogs, *Rana pipiens*. *Copeia*, 2004(3), 676–682. <https://doi.org/10.1643/CH-03-247R2>
- Lewis, E. R., Narins, P. M., Cortopassi, K. A., Yamada, W. M., Poinar, E. H., Moore, S. W., & Yu, X. L. (2001). Do male white-lipped frogs use seismic signals for intraspecific communication? *American Zoologist*, 41(5), 1185–1199. <https://doi.org/10.1093/icb/41.5.1185>
- Littlejohn, M. J., & Martin, A. A. (1969). Acoustic interaction between two species of leptodactylid frogs. *Animal Behaviour*, 17(4), 785–791. [https://doi.org/10.1016/s0003-3472\(69\)80027-8](https://doi.org/10.1016/s0003-3472(69)80027-8)
- Littlejohn, M. J., & Oldham, R. S. (1968). *Rana pipiens* complex: Mating call structure and taxonomy. *Science*, 162(3857), 1003–1005. <https://doi.org/10.1126/science.162.3857.1003>
- Luque-Montes, I., Austin, J. D., Weinfurter, K. D., Wilson, L. D., Hofmann, E. P., & Townsend, J. H. (2018a). An integrative assessment of the taxonomic status of putative hybrid leopard frogs (Anura: Ranidae) from the Chortís Highlands of Central America, with description of a new species. *Systematics and Biodiversity*, 16(4), 340–356. <https://doi.org/10.1080/14772000.2017.1415232>
- Marquez, R., & Bosch, J. (1995). Advertisement calls of the midwife toads *Alytes* (Amphibia, Anura, Discoglossidae) in continental Spain. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 33(2), 185–192. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0469.1995.tb00224.x>
- Marquez, R., la Riva, I. De, & Bosch, J. (1993). Advertisement Calls of Bolivian Species of *Hyla* (Amphibia, Anura, Hylidae). *Biotropica*, 25(4), 426. <https://doi.org/10.2307/2388866>
- McCranie, J. R., & Castañeda, F. E. (2007). *Guía de Campo de los Anfibios de Honduras* (Bibliomania (ed.)).
- McCranie, J. R. (2015). A checklist of the amphibians and reptiles of Honduras,

- with additions, comments on taxonomy, some recent taxonomic decisions, and areas of further studies needed. *Zootaxa*, 3931(3), 352–386. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3931.3.2>
- McCranie, J. R., & Wilson, L. D. (2002). *The amphibians of Honduras*. Bibliomania.
- Mejía, T House, P. (2002). *Mapa de Ecosistemas Vegetales de Honduras*. *Manual de consulta*, 1–60.
- Moore, J. A. (1944). Geographic variation in *Rana pipiens* (Schreber) of eastern North America. *Bull Amer Mus Nat Hist*, 82, 345–370.
- Narins, P. M., & Smith, S. L. (1986). Behavioral Ecology and Sociobiology Clinal variation in anuran advertisement calls: basis for acoustic isolation? *Behav Ecol Sociobiol*, 19, 135–141.
- Owren, M. J., Rendall, D., & Ryan, M. J. (2010). Redefining animal signaling: Influence versus information in communication. *Biology and Philosophy*, 25(5), 755–780. <https://doi.org/10.1007/s10539-010-9224-4>
- Rodella Manzano, M. C., Chagas, D. G., de Sena Ferreira, J. M., Sawaya, R. J., & Llusia, D. (2022). Reinforced acoustic divergence in two syntopic neotropical treefrogs. *Bioacoustics*, 31(2), 160–174. <https://doi.org/10.1080/09524622.2021.1899987>
- Rodríguez, A., Dugo-Cota, Á., Montero-Mendieta, S., Gonzalez-Voyer, A., Bosch, R. A., Vences, M., & Vilxà, C. (2017). Cryptic within cryptic: Genetics, morphometrics, and bioacoustics delimitate a new species of *Eleutherodactylus* (Anura: Eleutherodactylidae) from Eastern Cuba. *Zootaxa*, 4221(5), 501–522. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4221.5.1>
- Summers, K., Symula, R., Clough, M., & Cronin, T. (1999). Visual mate choice in poison frogs. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 266(1434), 2141–2145. <https://doi.org/10.1098/rspb.1999.0900>
- Toledo, L. F., Llusia, D., Vieira, C. A., Corbo, M., & Márquez, R. (2015). Neither convergence nor divergence in the advertisement call of sympatric congeneric Neotropical treefrogs. *Bioacoustics*, 24(1), 31–47. <https://doi.org/10.1080/09524622.2014.926831>
- Toledo, L. F., Martins, I. A., Bruschi, D. P., Passos, M. A., Alexandre, C., & Haddad, C. F. B. (2015). The anuran calling repertoire in the light of social context. *Acta Ethologica*, 18(2), 87–99. <https://doi.org/10.1007/s10211-014-0194-4>
- Townsend, J. H., Herrera-b, L. A., Hofmann, E. P., Ileana, R., Ross, A. N., Dudek, D. J., Krygeris, C., Duchamp, J. E., & Wilson, L. D. (2020). A critically endangered new species of polymorphic stream frog (Anura : Hylidae : Atlantihyla) from the montane rainforest of Refugio de Vida Silvestre Texiguat , Honduras Resumen. 70(4), 731–756. <https://doi.org/10.26049/VZ70-4-2020-12>
- Van Bocxlaer, I., Roelants, K., Biju, S. D., Nagaraju, J., & Bossuyt, F. (2006).

- Late cretaceous vicariance in Gondwanan amphibians. *PLoS ONE*, 1(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000074>
- Walton, D. W. H. (1992). Ecology and systematics. *Trends in Ecology and Evolution*, 7(5), 167. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(92\)90212-T](https://doi.org/10.1016/0169-5347(92)90212-T)
- Wilson, L. D., & McCranie, J. R. (2004). The conservation status of the herpetofauna of Honduras. *Amphibian and Reptile Conservation*, 3(1), 6–33. <https://doi.org/10.1514/journal.arc.0000012>
- Yuan, Z. Y., Zhou, W. W., Chen, X., Poyarkov, N. A., Chen, H. M., Jang-Liaw, N. H., Chou, W. H., Matzke, N. J., Iizuka, K., Min, M. S., Kuzmin, S. L., Zhang, Y. P., Cannatella, D. C., Hillis, D. M., & Che, J. (2016). Spatiotemporal Diversification of the True Frogs (Genus *Rana*): A Historical Framework for a Widely Studied Group of Model Organisms. *Systematic Biology*, 65(5), 824–842. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syw055>

ANEXOS

Anexo 1: Tabla de datos de los cantos de *R. lenca* y *Rana forreri*; NN:número de notas, DT: delta time, NRR: tasa de repetición de notas, LF: frecuencia más baja, HF: frecuencia mas alta, DF: delta frequency, PF: frecuencia pico, T:temperatura, H: porcentaje de humedad.

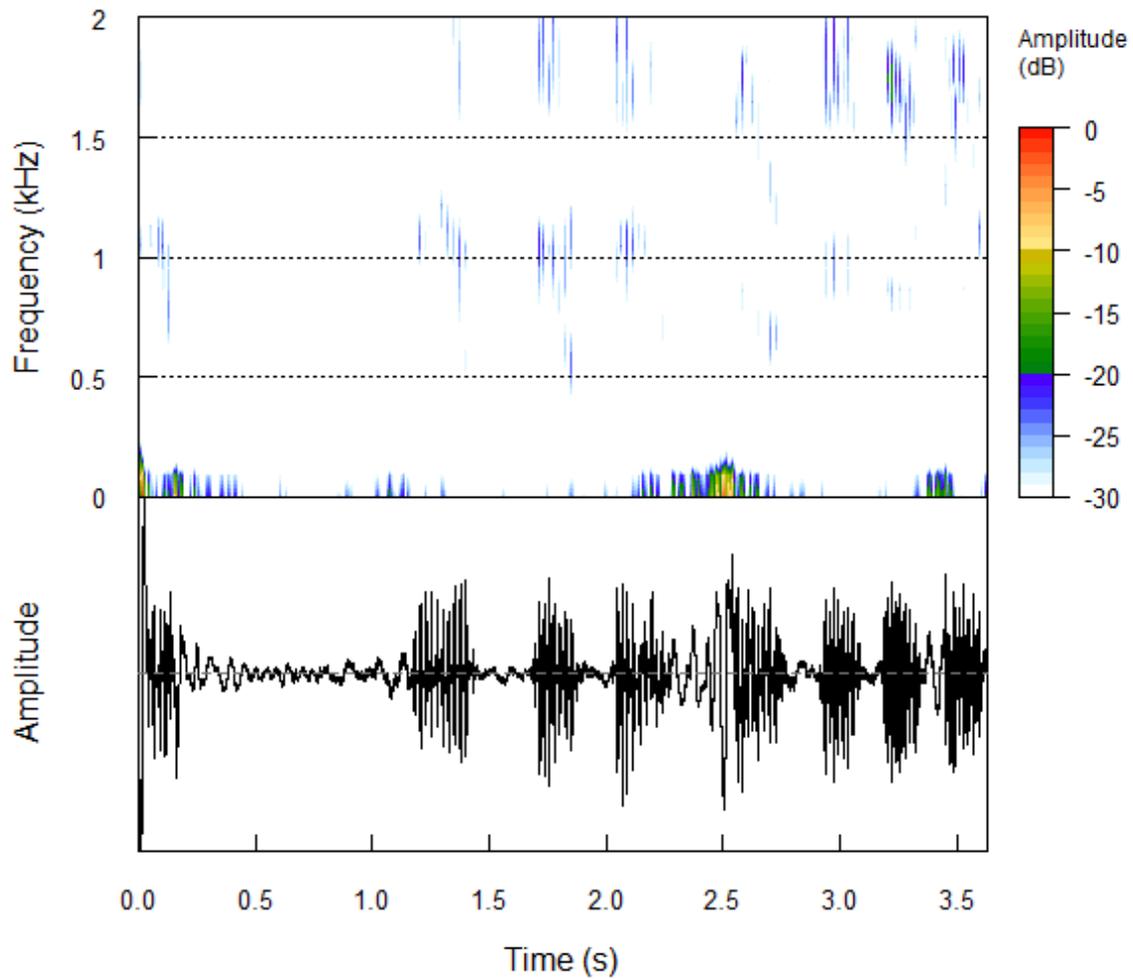
Especie	Type	NN	DT	NRR	LF	HF	DF	PF	T	H
Rana lenca	C	7	0.46	15.2173913	213	2742.9	2529.89	689.062	18.3	85
Rana lenca	C	7	0.49	14.28571429	213	2742.9	2529.89	689.062	18.3	85
Rana lenca	C	4	0.27	14.81481481	315.8	2362.6	2046.77	602.93	18.3	85
Rana lenca	C	7	0.44	15.90909091	287.1	2325.6	2038.47	689.06	18.3	85
Rana lenca	S	3	0.07	42.85714286	162.4	2436.2	2273.79	602.93	18.3	85
Rana lenca	S	3	0.08	37.5	406	3288.9	2882.84	602.93	18.3	85
Rana lenca	G	1	0.21	4.761904762	258.4	1349.4	1091.06	516.79	18.3	85
Rana lenca	C	6	0.38	15.78947368	258.4	2210.7	1952.34	516.79	18.3	85
Rana lenca	S	3	0.08	37.5	287.1	1493	1205.85	689.06	18.3	85
Rana lenca	G	1	0.19	5.263157895	358.9	1966.7	1607.81	1033.59	18.3	85
Rana lenca	S	4	0.21	19.04761905	86.1	2627.1	2540.9	947.43	18.3	85
Rana lenca	S	3	0.023	130.4347826	375.6	2133	1757.4	602.93	18.3	85
Rana lenca	S	4	0.216	18.51851852	365.4	2091.1	1725.64	1033.59	18.3	85
Rana lenca	S	3	0.115	26.08695652	385.7	1867.8	1482.02	602.93	18.3	85
Rana lenca	C	8	0.6132	13.04631442	345.1	3126.5	2781.33	516.79	18.3	85
Rana lenca	S	2	0.1084	18.4501845	142.1	2070.8	1928.56	602.93	18.3	85
Rana lenca	C	7	0.5239	13.3613285	304.5	3146.8	2842.23	602.93	18.3	85
Rana lenca	C	8	0.551	14.51905626	373.2	3273	2899.85	602.93	18.3	85
Rana lenca	C	8	0.56	14.28571429	315.8	3588.9	3273.05	689.06	18.3	85
Rana lenca	C	5	0.33	15.15151515	315.8	2182	1866.21	602.93	18.3	85
Rana lenca	S	4	0.11	36.36363636	385.7	2700	2314	689.06	18.3	85
Rana lenca	C	8	0.56	14.28571429	284.2	3126.5	2842.24	602.93	18.3	85
Rana lenca	S	2	0.28	7.142857143	284.2	2395.6	2111.37	602.93	18.3	85
Rana lenca	G	2	0.12	16.66666667	324.8	1218.1	893.27	602.93	18.3	85
Rana lenca	G	2	0.1987	10.06542526	263.9	1583.5	1319.61	119.72	18.3	85
Rana lenca	S	1	0.3207	3.118178983	263.9	1867.8	1603.83	1033.59	18.3	85
Rana lenca	S	1	0.262	3.816793893	243.6	1847.5	1603.83	1033.59	18.3	85
Rana lenca	S	1	0.43	2.325581395	210.69	2194.778	1984.08	258.398	17.77	83
Rana lenca	G	1	0.37	2.702702703	386.28	1632.915	1246.63	1291.99	17.77	83
Rana lenca	C	3	0.97	3.092783505	363.53	1770.29	1413.76	1205.86	17.77	83
Rana lenca	C	1	0.29	3.448275862	363.537	1770.29	1413.76	602.93	17.77	83
Rana lenca	C	1	0.33	3.03030303	323.14	1797.49	1474.34	1033.59	17.77	83
Rana lenca	C	4	0.23	17.39130435	287.109	6086.72	5799.6	689.02	18.88	83
Rana lenca	S	3	0.06	50	287.109	3789.8	3502.7	1378.12	18.88	83
Rana lenca	C	7	0.44	15.90909091	401.95	4306.64	3904.68	689.06	18.88	83
Rana lenca	S	4	0.11	36.36363636	227.32	4027.09	3799.77	602.93	18.88	83
Rana lenca	C	8	1.53	5.22875817	284.15	4716.88	4432.73	1464.258	18.88	83
Rana lenca	S	3	0.08	37.5	255.74	3949.67	3693.94	602.93	18.88	83
Rana lenca	S	3	0.06	50	284.15	3466.62	3182.47	689.06	18.88	83
Rana lenca	S	3	0.08	37.5	255.74	3779.18	3523.45	689.06	18.88	83
Rana lenca	S	4	0.089	44.94382022	255.74	3750.77	3495	1291.99	18.88	83
Rana lenca	C	5	0.32	15.625	255.74	3608.7	3352.97	1378.12	18.88	83
Rana lenca	S	3	0.07	42.85714286	255.735	3608.69	3352.96	602.93	18.88	83
Rana lenca	C	7	0.4	17.5	284.15	3665.53	3381.38	516.797	18.88	83
Rana lenca	S	2	0.08	25	284.15	3921.26	3637.11	602.93	18.88	83
Rana lenca	C	5	0.32	15.625	227.32	3921.26	3693.94	1205.85	18.88	83
Rana lenca	S	3	0.07	42.85714286	227.32	3921.26	3693.94	602.93	18.88	83
Rana lenca	G	12	0.2	60	369.39	3125.64	2756.64	775.19	18.88	83
Rana lenca	G	1	0.09	11.11111111	369.39	3580	3210.88	689.06	18.88	83

ANEXOS

Rana lenc	G	10	0.15	66.66666667	227.32	2358.44	2131.12	602.93	18.88	83
Rana lenc	G	11	0.34	32.35294118	198.9	2699.42	2500.52	602.93	18.88	83
Rana lenc	G	10	0.27	37.03703704	312.56	1989	1676.48	775.195	18.88	83
Rana lenc	G	10	0.3	33.33333333	312.56	2756.25	2443.69	861.33	18.88	83
Rana lenc	G	9	0.24	37.5	255.74	2841.5	2585.76	947.46	18.88	83
Rana lenc	C	3	0.08	37.5	369.4	3665.53	3296.13	947.46	18.88	83
Rana lenc	C	8	0.55	14.54545455	142.07	3239.3	3097.23	602.93	18.88	83
Rana lenc	S	3	0.07	42.85714286	255.74	3864.43	3608.7	516.79	18.88	83
Rana lenc	C	11	0.7	15.71428571	340.98	3949.68	3608.7	1291.99	18.88	83
Rana lenc	C	3	0.2843	10.55223356	220.22	2378.39	2158.17	602.93	17.22	82
Rana lenc	G	12	0.3819	31.42183818	110.11	1805.81	1695.71	516.797	17.22	82
Rana lenc	C	2	0.1967	10.16776817	264.26	1541.55	1277.28	516.797	17.22	82
Rana lenc	S	10	0.3013	33.18951211	161.64	2244.5	2082.89	516.797	16.11	85
Rana lenc	C	3	0.2453	12.22992254	279.62	2356.79	2077.17	602.93	16.11	85
Rana lenc	C	1	0.0841	11.89060642	359.51	3355.43	2995.92	516.79	16.11	85
Rana lenc	S	2	0.1921	10.41124414	323.86	2856.94	2533.1	602.93	18.33	83
Rana lenc	C	2	0.0932	21.45922747	331.196	3490.3	3159.1	516.79	18.33	83
Rana lenc	S	12	0.5849	20.51632758	254.76	3694.11	3439.35	516.79	18.33	83
Rana lenc	C	3	0.3136	9.566326531	254.76	3006.24	2751.47	516.79	18.33	83
Rana lenc	S	2	0.243	8.230452675	229.29	3566.73	3337.44	516.79	18.33	83
Rana lenc	C	3	0.4341	6.910850035	270.22	3918.19	3647.97	516.79	18.33	83
Rana lenc	G	3	0.3186	9.416195857	371.23	2557.37	2186.14	516.79	18.33	83
Rana lenc	C	7	0.5916	11.83231913	453.73	4784.76	4331.02	602.93	18.33	83
Rana lenc	S	2	0.374	5.347593583	288.73	2392.38	2103.64	430.66	18.33	83
Rana lenc	G	3	0.4465	6.718924972	329.98	3258.58	2928.6	516.79	18.33	83
Rana lenc	G	3	0.4186	7.166746297	288.73	2928.6	2639.86	516.79	18.33	83
Rana lenc	G	2	0.2344	8.532423208	371.23	3176.08	2804.85	602.93	18.33	83
Rana lenc	G	2	0.2233	8.956560681	247.48	2598.61	2351.13	516.79	18.33	83
Rana lenc	G	2	0.3293	6.07348922	288.73	2763.61	2474.87	602.93	18.33	83
Rana lenc	C	10	0.6028	16.58925017	288.73	4661.01	4372.27	516.79	18.33	83
Rana lenc	G	2	0.24	8.333333333	288.74	2309.88	2021.15	516.79	18.33	83
Rana lenc	S	2	0.3572	5.599104143	329.98	2021.15	1691.16	1119.72	18.33	83
Rana lenc	G	2	0.3293	6.07348922	329.98	2268.63	1938.65	602.93	18.33	83
Rana lenc	G	2	0.2847	7.024938532	288.73	2227.38	1938.65	602.93	18.33	83
Rana lenc	C	10	0.697	14.3472023	332.88	3728.26	3395.38	516.79	18.33	83
Rana lenc	S	1	0.3035	3.294892916	287.109	2296.87	2009.76	689.062	18.33	83
Rana lenc	S	1	0.2701	3.702332469	258.39	2383	2124.69	516.79	18.33	83
Rana lenc	S	2	0.2401	8.329862557	315.82	2325.58	2009.76	516.79	18.33	83
Rana lenc	C	2	0.11	18.18181818	344.53	3847.27	3502.73	602.93	18.33	83
Rana lenc	S	2	0.3502	5.711022273	344.53	3158.2	2813.67	516.79	18.33	83
Rana lenc	C	2	0.0867	23.06805075	315.82	3359.18	3043.36	602.93	18.33	83
Rana lenc	S	1	0.3401	2.940311673	315.82	3043.36	2727.54	516.79	18.33	83
Rana lenc	S	2	0.2334	8.568980291	258.39	2727.54	2469.14	516.79	18.33	83
Rana lenc	C	1	0.1067	9.372071228	290.13	3336.51	3046.38	602.93	18.33	83
Rana forre	C	3	0.3084	9.727626459	418.009	1319.342	901.333	689.062	21.3	80
Rana forre	S	8	0.4164	19.21229587	302.752	2081.417	1778.66	775.195	21.3	80
Rana forre	S	8	0.4429	18.06276812	340.59	1967.88	1627.29	775.195	21.3	80
Rana forre	S	8	0.4126	19.38923897	302.752	1589.44	1286.69	861.33	21.3	80
Rana forre	C	1	0.0568	17.6056338	454.12	2459.85	2005.73	689.06	21.3	80
Rana forre	C	2	0.0833	24.00960384	302.752	2232.793	1930.04	602.93	21.3	80
Rana forre	S	11	0.5376	20.46130952	340.595	2611.232	2270.637	689.06	21.3	80
Rana forre	C	2	0.2716	7.36377025	298.4	2571.6	2273.19	689.06	21.3	80
Rana forre	G	3	0.2716	11.04565538	397.8	1037.1	639.34	689.06	21.3	80
Rana forre	C	2	0.3088	6.476683938	312.6	2486.3	2173.74	775.195	21.3	80

ANEXOS

Rana forre	G	3	0.2875	10.43478261	426.2	994.5	568.29	689.06	21.3	80
Rana forre	C	2	0.4047	4.941932296	312.6	2514.7	2202.159	689.06	21.3	80
Rana forre	G	3	0.2875	10.43478261	383.6	923.5	539.884	689.06	21.3	80
Rana forre	C	2	0.3994	5.007511267	326.8	2315.8	1989.046	1033.594	21.3	80
Rana forre	G	4	0.5431	7.365126128	326.8	1534.4	1207.635	689.062	21.3	80
Rana forre	G	5	0.4952	10.09693053	397.8	1307.1	909.278	689.062	21.3	80
Rana forre	G	4	0.4792	8.347245409	326.8	1292.9	966.108	689.062	21.3	80
Rana forre	G	4	0.41	9.756097561	355.2	1605.4	1250.258	689.062	21.3	80
Rana forre	S	12	0.6709	17.88642123	269.9	2159.5	1889.594	689.062	21.3	80
Rana forre	S	10	0.5804	17.2294969	326.8	2671	2344.233	775.195	21.3	80
Rana forre	G	4	0.442	9.049773756	383.6	1633.9	1250.258	689.062	21.3	80
Rana forre	G	3	0.3355	8.941877794	312.6	1690.7	1378.125	689.062	21.3	80
Rana forre	G	3	0.2929	10.24240355	454.6	1548.6	1093.97	775.195	21.3	80
Rana forre	G	3	0.4739	6.330449462	312.6	1704.9	1392.332	689.062	21.3	80
Rana forre	G	3	0.4952	6.05815832	369.4	1733.3	1363.918	775.195	21.3	80
Rana forre	S	12	0.6017	19.94349344	448.7	3743.8	3295.154	947.461	21.3	80
Rana forre	G	3	0.3621	8.285004143	301.4	1627.5	1326.09	775.195	21.3	80
Rana forre	C	2	0.3887	5.145356316	200.9	3355.4	3154.507	775.195	21.3	80
Rana forre	G	4	0.3248	12.31527094	341.6	1727.9	1386.376	689.062	21.3	80
Rana forre	S	12	0.607	19.7693575	361.7	3034	2672.29	1033	21.3	80
Rana forre	G	4	0.394	10.15228426	301.4	1828.4	1527.02	689.06	21.3	80
Rana forre	S	12	0.7348	16.33097441	301.4	2993.8	2692.38	775.195	21.3	80
Rana forre	G	3	0.3781	7.934408887	301.4	1828.4	1527.02	775.19	21.3	80
Rana forre	G	2	0.4952	4.038772213	421.9	1808.3	1386.38	775.195	21.3	80
Rana forre	G	3	0.2982	10.06036217	361.7	1848.5	1486.84	775.195	21.3	80
Rana forre	S	13	0.852	15.25821596	301.4	3134.4	2833.029	1550.39	21.3	80
Rana forre	G	3	0.3621	8.285004143	341.6	1808.3	1466.74	775.195	21.3	80
Rana forre	C	2	0.3994	5.007511267	321.5	3034	2712.474	689	21.3	80
Rana forre	G	3	0.3674	8.165487207	261.2	1828.4	1567.207	775.195	21.3	80
Rana forre	S	13	0.7774	16.72240803	261.2	3054	2792.84	947.46	21.3	80
Rana forre	G	2	0.3461	5.778676683	301.4	1848.5	1547.115	689.062	21.3	80
Rana forre	S	12	0.7135	16.81850035	361.7	2913.4	2551.735	775.195	21.3	80
Rana forre	G	4	0.5058	7.908264136	421.9	1265.8	843.881	861.328	21.3	80
Rana forre	S	13	0.82	15.85365854	301.4	3315.2	3013.86	1550.391	21.3	80
Rana forre	G	4	0.639	6.259780908	241.1	2069.5	1828.409	775.195	21.3	80
Rana forre	G	3	0.623	4.81540931	361.7	2089.6	1727.947	689.062	21.3	80
Rana forre	G	3	0.4473	6.706908115	221	1928.9	1707.854	775.195	21.3	80
Rana forre	G	4	0.4047	9.883864591	301.4	1868.6	1567.207	775.195	21.3	80
Rana forre	G	4	0.5058	7.908264136	301.4	1808.3	1506.93	775.195	21.3	80
Rana forre	S	14	0.8094	17.29676303	261.2	3013.9	2752.659	1636.52	21.3	80
Rana forre	C	2	0.4207	4.753981459	200.9	3054	2853.121	1205.859	21.3	80
Rana forre	G	2	0.2875	6.956521739	381.8	1486.8	1105.08	775.195	21.3	80
Rana forre	C	2	0.3621	5.523336095	200.9	3054	2853.121	1205.859	21.3	80
Rana forre	C	1	0.1054	9.487666034	281.3	2109.7	1828.409	947.461	21.3	80
Rana forre	S	13	0.6869	18.9256078	321.5	3676.9	3355.431	1033.594	21.3	80
Rana forre	G	3	0.3142	9.548058561	321.5	1888.7	1567.207	775.195	21.3	80
Rana forre	C	1	0.1012	9.881422925	361.7	3134.4	2772.752	947.461	21.3	80
Rana forre	G	4	0.4153	9.631591621	301.4	1748	1446.653	689.06	21.3	80
Rana forre	C	1	0.0905	11.04972376	200.9	2913.4	2712.47	1119.727	21.3	80
Rana forre	C	1	0.1225	8.163265306	221	2913.4	2692.38	775.195	21.3	80
Rana forre	G	3	0.3355	8.941877794	221	1527	1306	775.195	21.3	80
Rana forre	C	1	0.1118	8.944543828	261.2	3214.8	2953.58	689.06	21.3	80
Rana forre	C	2	0.3248	6.157635468	221	3034	2812.936	1033.594	21.3	80
Rana forre	G	2	0.197	10.15228426	301.4	1386.4	1084.99	689.062	21.3	80



Anexo 2 Release call o canto de liberación de *Rana forreri* este canto fue grabado cuando un individuo lo emitió al ser manipulado, el tipo de canto es errático y no tiene valor taxonómico.