



# REVISTA LATINOAMERICANA DE HERPETOLOGÍA

ANFIBIOS Y REPTILES: DIVERSIDAD E HISTORIA NATURAL  
VOLUMEN 07 NÚMERO 03 JULIO-SEPTIEMBRE 2024 ISSN: 2594-2158

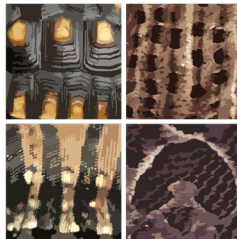




Es una publicación con el apoyo de



Asociación Herpetológica Argentina



**SBH**  
SOCIEDADE BRASILEIRA DE  
**HERPETOLOGIA**





revistas  
UNAM



Scientific Electronic Library Online



ISSN: 2594-2158 Volumen 07, Número 03, Julio-Septiembre 2024

Foto de portada: *Centrolene savagei* en amplexo, Cordillera Occidental de Colombia, Department of Risaralda, Colombia.

Foto: Xilena Rueda-Isaza,

<http://herpetologia.fciencias.unam.mx/index.php/revista>

Contacto: [revista.latin.herpetologia@gmail.com](mailto:revista.latin.herpetologia@gmail.com)

Revista Latinoamericana de Herpetología, año 7, no. 3, julio-septiembre 2024, es una publicación continua editada por la Sociedad Herpetológica Mexicana A. C., Dirección: Instituto de Biología SN, Ciudad Universitaria, Coyoacán, C.P. 04510, <http://herpetologia.fciencias.unam.mx/index.php/revista>, tel. (55) 56224800 ext. 44724, [revista.latin.herpetologia@gmail.com](mailto:revista.latin.herpetologia@gmail.com), Editor responsable: Leticia Margarita Ochoa Ochoa. Reserva de derechos al Uso Exclusivo No. 04-2018-100215505800-203 ISSN: 2594-2158, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización de este Número, Leticia Margarita Ochoa Ochoa, Departamento de Biología Evolutiva, Facultad de Ciencias, UNAM, Ciudad Universitaria, Coyoacán, C.P. 04510, fecha de última modificación, 30/noviembre /2018.



## CONSEJO EDITORIAL

### Editor-en-Jefe

Leticia M. Ochoa Ochoa (México)

### Editoras Adjuntas

Antonieta Labra Lillo (Chile)

Adriana Manzano (Argentina)

Irene Goyenechea Mayer-Goyenechea (México)

### Editores Consejeros

Teddy Angarita Sierra (Colombia)

Francisco Brusquetti (Paraguay)

Juan Manuel Guayasamin (Ecuador)

Oscar A. Flores Villela (México)

Rodrigo Macip Ríos (México)

Marcio Martins (Brasil)

Felipe Rabanal (Chile)

Rafael O. de Sá (U.S.A.)

### Editores Senior

Dr. Marcio Martins (Artigos em português)

Dr. Sean M. Rovito (English papers)

Dr. Pierre A.R.R.H. Charruau (Articles en français)

### Coordinador Editorial

César A. Ríos Muñoz

## COMITÉ EDITORIAL 2024-2026

### Editores Asociados

Katyuscia Araujo-Vieira (Brasil)

Pier Cacciali (Paraguay)

Alessandro Catenazzi (Perú)

Pierre A.R.R.H. Charruau (México)

Thaís Condez (Brasil)

Luis Fernando Díaz Gamboa (México)

Marissa Fabrezi (Argentina)

Ana Gatica Colima (México)

Jimena Grosso (Chile)

Oswaldo Hernández Gallegos (México)

Carlos Alberto Hernández Jiménez (México)

Rafael Alejandro Lara Resendiz (México)

Mariana L. Lyra (Brasil)

Ricardo Itzcóatl Maldonado Reséndiz (México)

Norberto Martínez Méndez (México)

Nancy R. Mejía Domínguez (México)

Ricardo Montero (Argentina)

Jorge E. Morales Mávil (México)

Carlos Navas (Brasil)

Mauricio Ocampo Ballivian (Bolivia)

Ernesto Raya García (México)

César A. Ríos Muñoz (México)

Vivian P. Páez (Colombia)

Nicolás Pelegrin (Brasil)

María Laura Ponssa (Argentina)

Sean Michael Rovito (México)

José Manuel Serrano (México)

Luis Sigler (Estados Unidos)

Jenny C. Urbina (Colombia)

Anyelet Valencia-Aguilar (Colombia)

Julián Andrés Velasco Vinasco (México)

Nelson Velásquez (Chile)

### English Style Corrector

Brett Butler

### Diseño Editorial

Andrea Vargas Fernández

Eugenio Froylan Rascón León

Paola Gómez Gómez

Carlos Antonio Rueda Escobedo

Leticia M. Ochoa Ochoa



# CONTENIDO

## ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

DNA BARCODES AND DIVERSITY OF AMPHIBIANS AND REPTILES IN AGROECOSYSTEMS OF THE COLOMBIAN ANDES.....24

Xilena Rueda-Isaza, Jhan C. Carrillo-Restrepo, Susan Saavedra-Porras, Juan M. Martínez-Cerónz & Juan F. Díaz-Nieto

COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE LA RANA DE CRISTAL *HYALINOBATRACHIUM TATAYOI* (ANURA: CENTROLENIDAE) EN UNA POBLACIÓN DE LOS ANDES COLOMBIANOS.....95

Maribel Rojas-Montoya, Yelenny López-Aguirre, Cristian González-Acosta & Fernando Vargas-Salinas

IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS ASOCIADAS A LA PIEL DE LAS RANAS DEL HUMEDAL DE LA CIUDAD DE BENJAMÍN ACEVAL, PARAGUAY, A PARTIR DE MÉTODOS BACTERIOLÓGICOS Y EL MÉTODO AUTOMATIZADO VITEK®.....127

Jose Petters, Mirian Alonso, Laura Ibarrola & Teresa Sotelo

## NOTAS CIENTÍFICAS

OBSERVATIONS ON THE NESTING BEHAVIOR OF THE YUCATAN SPINY-TAILED IGUANA *CACHRYX DEFENSOR* (SQUAMATA: IGUANIDAE) IN ITS NATURAL HABITAT.....1

Johana Gil-Escobedo, Gilberto Salazar-Asencio, Frida Yanes-Morán, Christian Chinchilla-Putzeys, Rony García-Anleu, Seyner Luis-Valenzuela, Walter García, Adriana Echeverría-Méndez & Daniel Ariano-Sánchez

PREDATION OF THE LIZARD *ANOLIS SAGREI* (SQUAMATA: ANOLIDAE) BY THE SNAKE *MASTIGODRYAS MELANOLOMUS* (SERPENTES: COLUBRIDAE) IN SOUTHEASTERN MEXICO.....4

Julio C. Hernández-Hernández, Christian E. Saiden-Carrillo & Pamela Onofre-Salomón

CIFOESCOLIOSIS EN *SCELOPORUS GRAMMICUS* (PHRYNOSOMATIDAE) EN LA SIERRA DE SANTA CATARINA, CIUDAD DE MÉXICO.....6

Raúl Balam Pérez Hernández, Matías Martínez Coronel, Luis Enrique Galeana Barrera & Diego Rivera Tellez

PREDATION OF *MYOTIS NIGRICANS* (CHIROPTERA: VESPERTILIONIDAE) BY *SPILOTES SULPHUREUS* (SQUAMATA: COLUBRIDAE) AND A REVISED LIST OF THE USE OF ROOFS AS FEEDING SITES BY NEOTROPICAL SNAKES.....9

Jackeline A. Mendoza-Soto, Emma Achahuanco-Sallo, Carolina M. Herrera Huayhua, Renato W. Colan-Rodríguez & Joseph L. Oakley

TAIL BIFURCATION IN A MESQUITE LIZARD *SCELOPORUS GRAMMICUS* (SQUAMATA: PHRYNOSOMATIDAE) IN A POPULATION FROM TOLUCA, MEXICO.....14

Gabriel Suárez-Varón, Carolina Nava-Almazán, Kenia Itzel Octaviano-Valencia, Edgar de la Rosa-Silva, Gisela Granados-González & Oswaldo Hernández-Gallegos

NUEVOS REGISTROS DE *METLAPILCOATLUS INDOMITUS* (SERPENTES: VIPERIDAE) EN HONDURAS, CON COMENTARIOS SOBRE SU REPRODUCCIÓN.....18

Oscar R. Suazo-Ortega, Jocelyn A. Castro & Cesar Molina

PREDATION OF THE CLOUDY-SNAILEATER, *SIBON NEBULATUS*, BY THE GREAT KISKADEEK, *PITANGUS SULPHURATUS*, IN THE NORTHERN LOWLANDS OF COSTA RICA.....48

José Manuel Mora & Elián Villalobos Alvarado

DALBINISMO EN *CROTALUS SIMUS* (SQUAMATA: VIPERIDAE).....78

Diego Armando Reyes-Cordova & Ernesto Velázquez-Velázquez

*COENDOU MEXICANUS* (ERETHIZOTIDAE) COMO PRESA POTENCIAL DE *CROCODYLUS ACUTUS* (CROCODYLIDAE) EN LA VENTANILLA, OAXACA, MÉXICO.....87

Jesús García-Grajales, Alejandra Buenrostro-Silva, Josué Ariel Aguilar García, Gaudencio Escamilla Cortés & Olegario Hernández Ramírez

EVIDENCIA DE COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE TORTUGA VERDE DEL PACÍFICO ORIENTAL (*CHELONIA MYDAS*) EN

EL PARQUE NACIONAL ARCHIPIÉLAGO DE REVILLAGIGEDO, MÉXICO.....141

Fernando Iván Hernández-Burgos, Helena Fernández-Sanz, Laura Andrea Flores-Gasca & Eduardo Reséndiz

FIRST RECORD OF NECROPHAGY BY PILLBUGS (*ARMADILLIDIUM VULGARE*) ON THE LINED TOLUCAN EARTHSNAKE (*CONOPSIS LINEATA*).....146

Edgar De La Rosa-Silva, Gabriel Suárez-Varón, Gisela Granados-González, Ilse E. Segura-Zarzosa & Oswaldo Hernández-Gallegos

## NOTAS DE DISTRIBUCIÓN

DISTRIBUTION EXTENSION OF *LEPTODACTYLUS RHODOMERUS* (LEPTODACTYLIDAE) TOWARDS THE CORDILLERA CENTRAL OF COLOMBIA.....53

Sebastián Florez-Lucero, Esteban Garzón-Franco & Esteban Alzate-Basto

THE SOUTHERNMOST RECORD OF THE ANTIOQUIA WEEVIL TOAD *RHINELLA TENREC* (ANURA: BUFONIDAE).....58

Luis Alberto Copete-Mosquera, Josue Restrepo Montoya & Alberto Sánchez-Vialas

PRIMEROS REGISTROS Y ESTADO ACTUAL DE *BOANA PICTURATA* (HYLIDAE) PARA EL DEPARTAMENTO DEL CHOCÓ, COLOMBIA.....73

Lucellis María Rivas Albornoz, Jhon Tailor Rengifo Mosquera, Lizeth Johana Palacios Rodríguez & Mayra Yulenis Rengifo Palacios

NUEVA CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO DE LA DISTRIBUCIÓN DE *TELMATOBIVUS CF. ATACAMENSIS* GALLARDO, 1962 EN LA PROVINCIA DE SALTA, ARGENTINA.....82

Rebeca Acosta, Mónica C. Soliz, Josué Resina Pastori, Rolando Vera, Sofía Castro Cavicchini, Alejandro Núñez, Carla Rodríguez, Nancy González Turu, Facundo Alvarez, Eduardo H. Sisti, Esteban Palacios & Miguel Mamani

THE RARE AND ELUSIVE *ENYALIOIDES GROI* (DUNN, 1933) (SQUAMATA: HOPLOCERCIDAE) IN PANAMA.....91

Ángel Sosa-Bartuano, Pedro L. Castillo-Caballero, Edgar Toribio & Lilisbeth Rodríguez-Castro

NEW DISTRIBUTION RECORDS WITH NOTES ON THE NATURAL HISTORY OF THREATENED FROGS (*PRISTIMANTIS TRIBULOSUS*, *NYMPHARGUS ROSADA*, AND *CENTROLENE ANTIOQUIENSIS*) IN NORTHERN TOLIMA, COLOMBIA.....119

Ricardo Medina, Bibiana Tovar, Willy Fernando Reyes-Torres & Manuel H. Bernal

PRIMER REGISTRO DE *MICRUROIDES EURYXANTHUS NEGLECTUS* (SERPENTES: ELAPIDAE) PARA EL ESTADO DE ZACATECAS.....137

Michael Rolando Gámez-Gallegos, Leonardo Isaac Solís-De Ávila, Heysa Aracely Sigala-Valdéz, Utilio Soto-Bermúdez & Paulino Ponce-Campos

REGISTROS COMPLEMENTARIOS DE *LAEMANCTUS SERRATUS* (SQUAMATA: CORYTOPHANIDAE) EN EL ESTADO DE HIDALGO.....151

Amayrani E. Trejo-Montero, Nallely Morales-Capellán, Fernando Ricardo Mendoza-Paz, Manuel Ángel Cruz Rosales, Dulce García-Sánchez & Leonardo Fernández-Badillo

## PERSPECTIVA

APROXIMACIONES GENÓMICAS Y SU UTILIDAD EN LA IDENTIFICACIÓN DE GENES INVOLUCRADOS EN ADAPTACIÓN LOCAL EN ECTOTERMOS, CON ÉNFASIS EN HERPETOFAUNA.....63

Luis Pastenes, Marcela Salazar-Viedma, Alejandro Zúñiga & Marta Fuentealba



ISSN: 2594-2158 Volumen 07, Número 03, Julio-Septiembre 2024

<http://herpetologia.fciencias.unam.mx/index.php/revista>

Contacto: [revista.latin.herpetologia@gmail.com](mailto:revista.latin.herpetologia@gmail.com)



# OBSERVATIONS ON THE NESTING BEHAVIOR OF THE YUCATAN SPINY-TAILED IGUANA *CACHRYX DEFENSOR* (SQUAMATA: IGUANIDAE) IN ITS NATURAL HABITAT

## OBSERVACIONES SOBRE EL COMPORTAMIENTO DE ANIDACIÓN DE LA IGUANA YUCATECA DE COLA ESPINOSA *CACHRYX DEFENSOR* (SQUAMATA: IGUANIDAE) EN SU HABITAT NATURAL

Johana Gil-Escobedo<sup>1,2</sup>, Gilberto Salazar-Asencio<sup>1</sup>, Frida Yanes-Morán<sup>3</sup>, Christian Chinchilla-Putzeys<sup>3</sup>, Rony García-Anleu<sup>4</sup>, Seyner Luis-Valenzuela<sup>4</sup>, Walter García<sup>5</sup>, Adriana Echeverría-Méndez<sup>3</sup> & Daniel Ariano-Sánchez<sup>1,2,6\*</sup>

<sup>1</sup>Reserva Natural Heloderma, Cabañas, Zacapa, Guatemala.

<sup>2</sup>Iguana Specialist Group, The International Union for Conservation of Nature (ISG-IUCN).

<sup>3</sup>Departamento de Biología, Universidad del Valle de Guatemala, Guatemala City, Guatemala.

<sup>4</sup>Wildlife Conservation Society, Guatemala Program, Petén, Guatemala.

<sup>5</sup>Consejo Nacional de Áreas Protegidas, San Benito, Petén, Guatemala.

<sup>6</sup>Centro de Estudios Ambientales y Biodiversidad, Universidad del Valle de Guatemala, Guatemala City, Guatemala.

\*Correspondence: [dariano@uvg.edu.gt](mailto:dariano@uvg.edu.gt)

Received: 2024-03-18. Accepted: 2024-05-06. Published: 2024-07-05.

Editor: Ernesto Raya García, México.

**Resumen.**— Describimos el primer registro de un nido silvestre de la iguana de cola espinosa Yucateca (*Cachryx defensor*) en su hábitat natural, con notas sobre el probable comportamiento de guarda durante la anidación y de fidelidad al sitio de anidación. El 22 de marzo de 2022, se encontró a una hembra de *C. defensor* dentro de un refugio en el hueco de un tronco de un árbol de chechén negro (*Metopium brownei*), un árbol tóxico típico del bosque tropical seco estacional y del matorral espinoso en el Parque Nacional Mirador-Río Azul, en el extremo norte de Guatemala. Tras una inspección más profunda del refugio, se encontró una puesta de tres huevos recién depositados dentro del hueco del tronco, sobre un lecho de restos de madera desecha en el interior del tronco hueco. Además, se observaron varios fragmentos de cáscaras de huevos antiguos que parecen pertenecer a una puesta del año anterior a nuestro hallazgo.

**Palabras clave.**— Fidelidad al sitio de anidación, reptiles, bosque seco, *Metopium brownei*, Guatemala.

**Abstract.**— We describe the first record of a wild nest of the Yucatan Spiny-tailed Iguana *Cachryx defensor* in its natural habitat, with notes on probable nesting guarding behavior and nest site fidelity. On 22 March 2022, an adult female *C. defensor* was found inside a shelter in a hollow trunk of a black-sap poisonwood (*Metopium brownei*), a toxic tree typical of the seasonally dry tropical forest and thorn scrub of Mirador-Río Azul National Park, in far northern Guatemala. On closer inspection of the shelter, a clutch of three recently laid eggs was found in the trunk cavity above a bed of wood debris inside the hollow trunk. Several egg-shell fragments of what seems to be a clutch from the year before our finding were also observed.

**Key words.**— Nesting site fidelity, reptiles, dry forest, *Metopium brownei*, Guatemala.

*Cachryx defensor*, commonly known as the Yucatan Spiny-tailed iguana, is an endangered iguana species endemic to the seasonally dry tropical forests and thorn scrub of Yucatán in Mexico, northern Belize, and northern Petén, in Guatemala (Malone et al., 2017, Monter-Pozos et al., 2022). On 22 March 2022, an adult female of the Yucatan Spiny-tailed iguana *C.*

*defensor* (snout to vent length 136 mm, weight 70 g) was found in a shelter approximately 1 meter above the ground, in a hollow trunk of a black-sap poisonwood (*Metopium brownei*), a toxic tree typical of the seasonally dry tropical forest and thorn scrub in Mirador-Río Azul National Park, in extreme northern Guatemala (17.7600° N, 89.3070° W; WGS84; 91 m a.s.l.). The habitat is a



**Figura 1.** Hembra adulta de *Cachryx defensor* (longitud del hocico a la cloaca de 136 mm, peso de 70 g)(A) y huevos en un nido de *C. defensor* encontrado dentro de un tronco hueco de *Metopium brownei* aproximadamente a 1 metro sobre el suelo (B) en el Parque Nacional Mirador-Río Azul, en el extremo norte de Guatemala, a una elevación de 91 m el 22 de marzo de 2022. Fotos: Frida Yanes.

**Figure 1.** Adult female *Cachryx defensor* (snout to vent length 136 mm, weight 70 g)(A) and eggs located in a *C. defensor* nest within a hollow trunk of a black sap poisonwood *Metopium brownei* approximately 1 m above the ground, (B) in the Mirador-Río Azul National Park, in extreme northern Guatemala at 91 m elevation on 22 March 2022. Photos: Frida Yanes..



seasonally dry tropical forest and thorn scrub in a flood prone area.

After a careful inspection of the shelter, a clutch of three recently laid eggs was found in the hollow trunk above a bed of wood debris inside the hollow trunk. Several eggshell fragments were also observed from what seems to be a clutch from the year before we found it. To the best of our knowledge, this is the first ever published report of a wild nest of *C. defensor*. Our observations of the number of eggs laid are consistent with the reports of clutch size from captive individuals (Monter-Pozos et al., 2022).

The fact that we have observed an adult female in the same hollow trunk cavity where the egg clutch was found may indicate nest-guarding behavior in this species. Also, the old eggshells found within the same cavity suggest that the iguanas used this shelter as a nesting site in the past. In addition, the toxic nature of the tree (*Metopium brownei*) where the nest was found raises several questions about the possible benefits of nesting in a toxic tree for nest protection in this species. This tree is poisonous to touch thus the use of this species as a nesting site by the iguanas can be advantageous to deter predators from reaching the nest. The area where the nest was found is prone to flooding, so it may be advantageous for nesting species to lay their eggs in suitable above-ground shelters to avoid embryo death by drowning. Further research on these topics is needed to better understand the factors that influence nest site selection and the nesting behavior of *C. defensor*. This information may be useful for the

conservation and management of the species in its natural habitat.

**Acknowledgements.-** Funding for this research was provided by the International Iguana Foundation (IIF) through grant agreement IIF # 2021-Cachryx. The research was done under Research Permit # DVCB 12-2021 and Collection Permit # B 01027 issued by CONAP to Daniel Ariano-Sánchez. Animal ethics approval has been given by Comité de Ética, para el Uso y Cuidado Animal de la Universidad del Valle de Guatemala (CEUCA-UVG) according to proposal I-2022. Thanks to Heloderma Natural Reserve, Forgotten Nature, and the Biology Department of Universidad del Valle de Guatemala for providing the field equipment needed for the research. Special thanks to the Wildlife Conservation Society, CONAP, and FUNDAECO for the logistic support and field vehicles needed to access the study site.

## CITED LITERATURE

- Malone, C. L., V.H. Reynoso & L. Buckley. 2017. Never judge an iguana by its spines: systematics of the Yucatan spiny tailed iguana, *Ctenosaura defensor* (Cope, 1866). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 115:27-39.
- Monter-Pozos, A., J.C. Hernández-Hernández, P.E. Nahuat-Cervera & J.R. Avilés\_Novelo. 2022. La iguana Chopito (*Cachryx defensor*), endémica de la provincia biótica de la península de Yucatán. *Bioagrociencias* 15:77-84.



# PREDATION OF THE LIZARD *ANOLIS SAGREI* (SQUAMATA: ANOLIDAE) BY THE SNAKE *MASTIGODRYAS MELANOLOMUS* (SERPENTES: COLUBRIDAE) IN SOUTHEASTERN MEXICO

## DEPREDACIÓN DE LA LAGARTIJA *ANOLIS SAGREI* (SQUAMATA: ANOLIDAE) POR LA SERPIENTE *MASTIGODRYAS MELANOLOMUS* (SERPENTES: COLUBRIDAE) EN EL SURESTE DE MÉXICO

Julio C. Hernández-Hernández<sup>1\*</sup>, Christian E. Saiden-Carrillo<sup>1</sup> & Pamela Onofre-Salomón<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Grupo Xcaret, Carretera Chetumal-Puerto Juárez Km 282. Playa del Carmen, Quintana Roo, México.

\*Correspondence: [jhernandezhernande@xcaret.com](mailto:jhernandezhernande@xcaret.com)

Received: 2024-04-01. Accepted: 2024-05-30. Published: 2024-07-05.

Editor: Irene Goyenechea Mayer-Goyenechea, México.

**Resumen.**— Reportamos el primer evento de depredación del abaniquillo pardo del Caribe *Anolis sagrei*, por la serpiente lagartijera olivacea *Mastigodryas melanolomus* en el sureste de México. Este nuevo registro contribuye a una mejor comprensión de la historia natural y la ecología trófica de dos especies de reptiles en su interacción depredador-presa.

**Palabras clave.**— Dieta, especies invasoras, presa, ecología trófica.

**Abstract.**— We report the first predation event of the brown anole *Anolis sagrei* by the salmon-bellied racer *Mastigodryas melanolomus* in southeastern Mexico. This new record contributes to a better understanding of the natural history and trophic ecology of two species of reptiles in their predator-prey interaction.

**Keywords.**— Diet, invasive species, prey, trophic ecology.

The salmon-bellied racer *Mastigodryas melanolomus* (Cope, 1868) is a neotropical colubrine diurnal that inhabits lowlands and premontane Atlantic and Pacific Mexican slopes, through Central America to Panama (Campbell, 1998). Feed on terrestrial lizards, mainly of the genus *Anolis*, however, frogs, reptile eggs, small mammals and other snakes have been found in stomach contents (Díaz-Gamboa et al., 2020).

Here we document a predation event by a *M. melanolomus* upon a brown anole *Anolis sagrei* (Duméril & Bibron, 1837), a native lizard species from Bahamas, Cuba, and associated islets and cays (Campbell & Echternacht 2003; Powell & Henderson 2012), that has been widely introduced either naturally or through human activities in several countries, including Mexico (Fläschendräger, 2010; Vásquez-Cruz et al., 2021).

On 26 September 2023 at 0840 h., during a wildlife survey at Xcaret Park, Quintana Roo, Mexico (20.5860° N, 87.1171° W, 12 m a.s.l.), we observed an *M. melanolomus* attacking a *A. sagrei*. While

walking, we observed an individual of *A. sagrei* on the trunk of a tree; after approaching it moved towards the ground, seconds later an adult *M. melanolomus* bolted out from underneath a nearby rock and grabbed the lizard. The *A. sagrei* was captured by the abdomen and positioned upside down within the snake's jaws all the while thrashing in an attempt to escape (Fig. 1). We did not observe progress towards swallowing the prey, likely due to our movement and presence. Finally, the snake then swiftly moved under the rock, with the lizard still in its mouth.

*Anolis sagrei* is common in Xcaret Park, and its presence can have a significant negative impact on ecosystem, as it has been reported for other introduced populations (Dufour et al., 2020; Abreu-Acosta et al., 2023). We consider that *M. melanolomus* represents an important natural control on the populations of *A. sagrei* in this site; however, there is a possibility that individuals of *M. melanolomus*, acquire parasites and diseases by feeding on this lizard. To our knowledge, this is the first documented observation of an adult *M. melanolomus* predating a *A. sagrei*.



**Figure 1.** Predation of *Anolis sagrei* by *Mastigodryas melanolomus*. / **Figura 1.** Depredación de *Anolis sagrei* por *Mastigodryas melanolomus*.

**Acknowledgements.**— We thank the anonymous reviewers who provided valuable comments and suggestions for improving this manuscript, providing comments and suggestions that greatly improved this manuscript.

## CITED LITERATURE

- Abreu-Acosta N., R. Pino-Vera, E. Izquierdo-Rodríguez, O. Afonso & P. Foronda. 2023. Zoonotic bacteria in *Anolis sp.*, an invasive species introduced to the Canary Islands (Spain). *Animals* 13:414.
- Campbell, J.A. 1998. *Amphibians and Reptiles of Northern Guatemala, the Yucatan, and Belize*. University of Oklahoma Press, Norman, Oklahoma, USA.
- Campbell, T.S. & A.C. Echternacht. 2003. Introduced species as moving targets: changes in body sizes of introduced lizards following experimental introductions and historical invasions. *Biological Invasions* 5:193-212.
- Díaz-Gamboa, L., D. May-Herrera, A. Gallardo-Torres, R. Cedeño-Vázquez, V. González-Sánchez, X. Chiappa-Carrara & C. Yañez-Arenas. 2020. Catálogo de Reptiles de la Península de Yucatán. Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad Mérida, Universidad Nacional Autónoma de México, Mérida, Yucatán, México.
- Dufour, C.M.S., D.L. Clark, A. Herrel & J.B. Losos. 2020. Recent biological invasion shapes species recognition and aggressive behaviour in a native species: A behavioural experiment using robots in the field. *Journal of Animal Ecology* 89:1604-1614.
- Fläschendräger, A. 2010. Cuban Brown Anoles (*Anolis sagrei*) in St. Maarten. *Reptiles & Amphibians* 17:121-122.
- Martins, M. & M.E. Oliveira. 1998. Natural history of snakes in forests of the Manaus Region, Central Amazonia, Brazil. *Herpetological Natural History* 6:78-150.
- Powell, R. & R.W. Henderson. 2012. Island lists of West Indian amphibians and reptiles. *Bulletin of the Florida Museum of Natural History* 51:85-166.
- Vásquez-Cruz, V., A. Reynoso-Martínez, L. González-Galindo & O. Cid-Mora O. 2021. Nuevos registros de la lagartija introducida *Anolis sagrei* (Squamata: Dactyloidae) en el estado de Veracruz, México *Revista Latinoamericana de Herpetología* 4:211-214.



# CIFOESCOLIOSIS EN *SCELOPORUS GRAMMICUS* (PHRYNOSOMATIDAE) EN LA SIERRA DE SANTA CATARINA, CIUDAD DE MÉXICO

## KYPHOSCOLIOSIS IN *SCELOPORUS GRAMMICUS* (PHRYNOSOMATIDAE) IN THE SIERRA DE SANTA CATARINA, MEXICO CITY

Raúl Balam Pérez Hernández<sup>1\*</sup>, Matías Martínez Coronel<sup>1</sup>, Luis Enrique Galeana Barrera<sup>1</sup> & Diego Rivera Tellez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Av. San Rafael Atlixco 186, Col. Purísima, Iztapalapa. C. P. 09340. Ciudad de México, México.

\*Correspondence: [rbphmamiferos@gmail.com](mailto:rbphmamiferos@gmail.com)

Received: 2024-03-12. Accepted: 2024-06-05. Published: 2024-07-05

Editor: Itzcoatl Maldonado Reséndiz, México.

**Abstract.** – While conducting wildlife monitoring in the Sierra de Santa Catarina, Mexico City, we found an adult of *Sceloporus grammicus* with thoracic kyphosis and pelvic scoliosis. These anomalies, together with lordosis, are the most commonly reported in reptiles. Throughout one year of reptile monitoring in the Sierra de Santa Catarina we counted 246 specimens of *S. grammicus*, of which only this individual presented the mentioned condition, which is in agreement with the literature that its prevalence is low in wild animals.

**Keywords.** – Malformations, osseous, reptile, spine, vertebral.

**Resumen.** – Mientras llevamos a cabo un monitoreo de fauna en la Sierra de Santa Catarina, Ciudad de México, encontramos un individuo adulto de *Sceloporus grammicus* con cifosis torácica y escoliosis pélvica. Estas anomalías, junto con la lordosis son las comúnmente más reportadas en reptiles. Durante un año de monitoreo de reptiles en la Sierra de Santa Catarina hemos contabilizado 246 ejemplares de *S. grammicus*, de los cuales solo este individuo presentó la afección citada, lo que concuerda con la literatura de que su prevalencia es baja en animales silvestres.

**Palabras clave.** – Columna, malformaciones, óseo, reptil, vertebral.

La cifosis, lordosis y escoliosis son los tres tipos más comunes de malformaciones óseas presentes en la espina dorsal en los reptiles, las cuales pueden presentarse solas o como una combinación de éstas (Barrio-Garín et al., 2011; Pérez-Delgadillo et al., 2015; Rotschild et al., 2012). La cifosis es una curvatura convexa anormalmente excesiva en las regiones torácica y sacra, la escoliosis es una desviación del plano lateral de la columna vertebral, mientras que la lordosis es una intrusión de la columna vertebral (Rotschild et al., 2012). Las malformaciones en la columna se pueden deber a determinismo genético, anoxia embrionaria, condiciones incorrectas durante la incubación de los huevos, como temperaturas excesivamente altas o bajas, baja y alta humedad relativa, variaciones de temperatura en el nido, deshidratación del huevo, insuficiencia de nutrientes en el desarrollo embrionario, radiación, enfermedades metabólicas

óseas y exposición a contaminantes y agentes químicos (Bellairs, 1981; Pérez-Delgadillo et al., 2015; Valdeón et al., 2020). Sin embargo, estas malformaciones pueden aparecer en cualquier momento del desarrollo del reptil (Frye, 1991; Pérez-Delgadillo et al., 2015). Estas anomalías osteológicas son raramente observadas y registradas en reptiles de vida libre, por lo que su hallazgo y reporte son importantes para conocer su prevalencia (Pérez-Delgadillo et al., 2015; Valdeón et al., 2020).

En esta nota reportamos por primera vez para la especie un caso de cifoescoliosis en *Sceloporus grammicus*, de la Sierra de Santa Catarina, CDMX. *Sceloporus grammicus* es una especie de lagartija de la familia Phrynosomatidae, que se distribuye desde el istmo de Tehuantepec hasta el sur de Texas, en elevaciones de 0 a 4,600 m s.n.m., es de hábitos diurnos y generalmente



**Figure 1.** Individual of *S. grammicus* with kyphosis (white arrow) in the thoracic area and a scoliosis (black arrow) in the thoracic region.

**Figura 1.** Individuo de *S. grammicus* con una cifosis (flecha blanca) en el área torácica y una escoliosis (flecha negra) en la región torácica.

se encuentran en troncos, tocones, debajo de la corteza de los árboles, en grietas y en rocas (Altamirano et al., 2015).

Durante un monitoreo de fauna en la Sierra de Santa Catarina, CDMX, el 8 de diciembre de 2022 observamos un ejemplar adulto de sexo desconocido de *Sceloporus grammicus* con cifosis en la región torácica, y escoliosis en la región pélvica (Fig. 1). El animal estaba tomando el sol sobre un tronco de pirul (*Schinus molle*) a las 14:28 h, el cual al notar nuestra presencia se refugió inmediatamente entre las rocas del sustrato. El sitio de observación fue en la ladera sur del volcán Mazatepec (19.322251° N, 99.0084905° W, 2,539 m s.n.m.) y está rodeado por pastizal y campos de cultivo. El ejemplar fue visto posteriormente el 1 y 23 de marzo de 2023 (Fig. 2), tomando el sol sobre una roca. En ambos casos al notar nuestra presencia se movió con rapidez y agilidad entre las rocas, por lo que nos fue imposible capturarlo para tomar medidas morfométricas, sexo y observar su condición corporal. El resto del año 2023 no volvimos a ver al animal en su sitio original de percha ni en áreas cercanas, por lo que suponemos que pudo haber muerto o desplazado, considerando que tienen un ámbito hogareño que va de 256.19 m<sup>2</sup> en hembras a 356.59 m<sup>2</sup> en machos (Gutiérrez, 1983).

Como pudimos notar durante las veces que observamos al ejemplar de *S. grammicus*, a pesar de las malformaciones óseas que tenía, estas no la limitaban para desplazarse con agilidad. Lo cual coincide con otros reportes de reptiles con cifosis y escoliosis, donde comentan que estas malformaciones aparentemente no afectan su locomoción para escapar de los depredadores, buscar alimento o supervivencia hasta el estado adulto (Domínguez de la Riva & Carbajal-Márquez, 2016; Horváth et al., 2021; Pérez-Delgadillo et al., 2015; Valdez-Villavicencio et al., 2024); no obstante, las malformaciones extremas en reptiles que se encuentran en eclosión suelen ser fatales (Bateman et al., 2022).

Horváth et al., (2021) y Pérez-Delgadillo et al., (2015) consideran que estas malformaciones son raras en la naturaleza, lo que concuerda con nuestros datos, pues de 246 individuos de *S. grammicus* contabilizados en un periodo de un año, en la zona de estudio, éste fue el único ejemplar con cifoescoliosis (Rivera-Téllez et al., datos sin publicar), además de ser el primer registro de cifoescoliosis en la especie (Horváth et al., 2021).

**Acknowledgements.-** Se agradece a Oliver Bello, Norma Bello, Raúl Pérez Sánchez y Jorge Martínez Flores por su apoyo en



**Figure 2.** Second record of the same specimen resting on a rock./ **Figura 2.** Segundo registro del mismo ejemplar descansando sobre una roca.

campo. También se agradece a CONAHCYT y a la coordinación de la Maestría en Biología de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa por su apoyo.

## LITERATURA CITADA

- Altamirano, A.T.A., K.S.G. Keer & S.M. Soriano. 2015. Distribución y uso de microhábitats de *Sceloporus grammicus* Wiegmann (Sauria: Phrynosomatidae) en la F.E.S. Iztacala. *Revista de Zoología* 26:11-19.
- Barrio-Garín, I., I. Sanz-Azkue, A. Gosa & A. Bandrés. 2011. Un caso de cifosis en *Podarcis pityusensis* (Boscá, 1883), lagartija introducida en el peñón de Gaztelugatxe (Bizkaia). *Munibe* 59:103-109.
- Bateman, P., R. Benken & R. Glowacki. 2022. A most unusual tail: Scoliosis in a wild Australian skink, and reported incidences and suggested causes of similar malformations amongst squamates. *Austral Ecology* 47:723-728.
- Bellairs, A. 1981. Congenital and developmental diseases. Pp. 469-486. En: Cooper, J.E. & O.F. Jackson (Eds.), *Diseases of the Reptilia*, Academic Press, London, UK.
- Domínguez de la Riva, M.A. & R.A. Carbajal-Márquez. 2016. *Norops sericeus* (Hallowell, 1856) Kyphosis and scoliosis. *Mesoamerican Herpetology* 3:725-726.
- Frye, F.L. 1991. *Biomedical and surgical aspects of captive reptile husbandry*. Krieger Publishing Company, Malabar, Florida, USA.
- Gutiérrez, A. 1983. Comportamiento, territorialidad, y ámbito hogareño en dos especies simpátricas de lagartijas (*Sceloporus grammicus* y *Sceloporus scalaris*) en la Reserva de la Biosfera de la Michilla, Estado de Durango, Mexico. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México. Los Reyes Iztacala, México México.
- Horváth, G., J. Martín & G. Herczeg. 2021. A case of kyphosis in adult male Cyren's rock lizard *Iberolacerta cyreni*. *The Herpetological Bulletin* 155:40-42.
- Pérez-Delgadillo, A.G., G.E. Quintero-Díaz, R.A. Carbajal-Márquez & C.M. García-Balderas. 2015. Primer reporte de cifosis en *Sceloporus torquatus* (Squamata: Phrynosomatidae) en el estado de Aguascalientes, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 86:272-274.
- Rotschild, B. M., H.-P. Schultze & R. Pellegrini. 2012. *Herpetological osteopathology*. Springer New York, New York, USA.
- Valdeón, A., C. Ayres, V. Rada, A. Bañeres & A. Martínez-Silvestre. 2020. First case of lordosis in a wild- caught European pond turtle (*Emys orbicularis*). *North-Western Journal of Zoology* 16:242-244.



# PREDATION OF *MYOTIS NIGRICANS* (CHIROPTERA: VESPERTILIONIDAE) BY *SPILOTES SULPHUREUS* (SQUAMATA: COLUBRIDAE) AND A REVISED LIST OF THE USE OF ROOFS AS FEEDING SITES BY NEOTROPICAL SNAKES

## DEPREDACIÓN DE *MYOTIS NIGRICANS* (CHIROPTERA: VESPERTILIONIDAE) POR *SPILOTES SULPHUREUS* (SQUAMATA: COLUBRIDAE) Y UNA LISTA REVISADA DEL USO DE TECHOS COMO SITIOS DE ALIMENTACIÓN POR SERPIENTES NEOTROPICALES

Jackeline A. Mendoza-Soto<sup>1,2\*</sup> , Emma Achahuanco-Sallo<sup>1,3</sup> , Carolina M. Herrera Huayhua<sup>1,4</sup> , Renato W. Colan-Rodriguez<sup>1,4</sup>  & Joseph L. Oakley<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Crees Foundation for Manu, Manu Learning Centre, Fundo Mascoitania S/N, Manu, Madre de Dios, Perú.

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Agraria La Molina, Av. La Molina S/N, Lima, Perú.

<sup>3</sup>Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Av. de La Cultura 773, Cusco, Perú.

<sup>4</sup>Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Santa Catalina N° 117, Arequipa, Perú.

\*Correspondence: [jackelineams11@gmail.com](mailto:jackelineams11@gmail.com)

Received: 2024-02-04. Accepted: 2024-05-23. Published: 2024-07-09.

Editor: Ernesto Raya-García, México.

**Resumen.**— Reportamos el primer registro de depredación de un Murciélago Negruzco Común (*Myotis nigricans*) por una Serpiente Silbadora Gigante (*Spilotes sulphureus*), ocurrido en el techo de paja de la Estación Biológica Manu Learning Centre en la zona de amortiguamiento del Parque Nacional del Manu, Madre de Dios, Perú. Además, proporcionamos una breve y comparativa lista del uso observado de techos como sitios de alimentación en otras especies de serpientes neotropicales. Nuestra observación de *S. sulphureus*, junto con registros previos de serpientes encontradas cazando en los techos, resalta cómo los hábitats antropogénicos pueden brindar oportunidades de alimentación únicas y cómo algunas especies de serpientes se han adaptado para utilizarlas. Además, estas serpientes pueden desempeñar un papel en el control de plagas de especies que se sabe que son portadoras de enfermedades zoonóticas, como los murciélagos, proporcionando un servicio beneficioso para los humanos.

**Palabras clave.**— Dieta, murciélagos, Parque Nacional del Manu, serpientes, servicios del ecosistema.

**Abstract.**— We report the first record of predation of a Black Myotis (*Myotis nigricans*) by a Yellow-bellied Puffing Snake (*Spilotes sulphureus*), which occurred in the thatched roof of the Manu Learning Centre Biological Station in the buffer zone of the Manu National Park, Madre de Dios, Peru. Additionally, we provide a brief and comparative list of the observed use of roofs as feeding sites in other species of neotropical snakes. Our observation of *S. sulphureus*, along with previous records of snakes found hunting in roofs, highlights how anthropogenic habitats may provide unique feeding opportunities and how some species of snakes have adapted to utilise them. Furthermore, these snakes may play a role in pest control of species known to carry zoonotic diseases such as bats, providing a beneficial service to humans.

**Keywords.**— Bats, diet, ecosystem services, Manu National Park, snakes.

Across the Neotropics, especially in rural areas, snakes have been observed in the roofs of human buildings, sometimes utilising them for hunting due to the presence of prey species such as bats (Esbérard & Vrcibradic, 2007; Chávez-Arribasplata et al.,

2016). *Spilotes sulphureus* (Yellow-bellied Puffing Snake) is an arboreal snake species that is widely distributed throughout the Amazon region as well as the Brazilian Atlantic Forest (Andrade et al., 2017), in primary and secondary forest, plantations, and

human disturbed sites (Cunha & Nascimento, 1993; Martins & Oliveira, 1998). It is an active predator that has been recorded to feed on birds (eggs, nestlings, domestic and native adult birds) (Beebe, 1946; Rivas & Kane, 2003; Alves et al., 2005; Bernarde & Abe, 2010), bats (Rufino & Bernardi, 1999; Esbérard & Vrcibradic, 2007; Andrade et al., 2017), rodents (Cunha & Nascimento, 1993; Bocchiglieri & Gomes, 2019), lizards and amphibians (Marques et al., 2001; de Freitas, 2003).

The vespertilionid bat, *Myotis nigricans* (Black Myotis) has the widest geographic range and altitudinal distribution of its genus, extending from Mexico to northern Argentina, and from sea level to 3,150 m a.s.l. (Wilson & LaVal, 1974; Moratelli et al., 2011). This insectivorous bat is more common in disturbed areas, such as human buildings, than in primary forest (Wilson, 1971). Their predators include mammals, birds, and snakes (Wilson & LaVal, 1974; Fischer et al., 2010). Additionally, juvenile bats can be predated upon by cockroaches and spiders (Wilson 1971; Wilson & LaVal, 1974). Wilson and LaVal (1974) reported that predators of *M. nigricans* may include snakes of the genus *Pseustes*, a now

defunct genus whose members were reassigned to the genera *Phrynonax* and *Spilotes* (Jadin et al. 2013). However, they did not state the species of *Pseustes* for which there were observations of predation. Herein we report, to the best of our knowledge, the first documented predation event of *S. sulphureus* on *M. nigricans* and provide a compilation of records of other predation events by snakes that have been observed under the roofs of human habitations in neotropical environments.

At 10:16 h on May 23 2022, at the Manu Learning Centre Biological Station, situated in the buffer zone of the Manu National Park, Madre de Dios, Peru (12.78946° S, 71.39162° W, WGS 84; 460 m a.s.l.), we heard the fluttering of bats coming from inside the thatched roof of the station offices, which is made up of two layers. The inner material is made of layered dried palm leaves and the outer of asbestos sheets. Upon inspection, we noticed an adult *S. sulphureus* (~2,000 mm total length) emerging from a gap in the palm leaves of the roof with a bat in its mouth (Fig. 1). The bat was identified as *M. nigricans*. At 10:32 h the snake moved onto one of the wooden



**Figura 1.** *Spilotes sulphureus* alimentándose de *Myotis nigricans* en el techo de la Estación Biológica Manu Learning Centre, Madre de Dios, Perú. Foto: Renato W. Colan-Rodríguez.

**Figure 1.** *Spilotes sulphureus* feeding on *Myotis nigricans* in the roof of the Manu Learning Centre Biological Station, Madre de Dios, Peru. Photo: Renato W. Colan-Rodríguez.



beams supporting the roof where it continued ingesting the bat. Finally, the snake finished consuming its prey at 10:52 h. At 11:00 h, it retreated into the roof and disappeared from our sight. In addition to this predation event, we have observed different *S. sulphureus* individuals moving in and out of the station roofs on multiple occasions.

To complement our observation, we conducted a review of the published literature and compiled a list of 10 records of successful or attempted predation events by snakes within roofs of human structures in the Neotropics (Table 1). The prey species were bats in eight of the records, while the remaining observations involved a lizard and a boid snake.

To our knowledge, this is the first documented record of *S. sulphureus* predating on *M. nigricans*. Black *Myotis* bats live in large numbers in the roofs of buildings at the study site, and *S. sulphureus* is also frequently found in the same roofs, often active during the mornings. Furthermore, due to the large overlap in their distributions and occurrence in similar microhabitats, it is likely that interactions between the two species are not uncommon. Refuges of molossid and vespertilionid bats generally have few openings (Esbérard & Vrcibradic, 2007), which acts as an advantage for snakes that enter them to capture bats. Furthermore, groups of *M. nigricans* are known to remain

lethargic until mid-morning (Wilson, 1971) which would increase the hunting success of predators during the morning as we saw in this predator-prey interaction. Previously, *S. sulphureus* has been documented preying upon the bat *Molossus molossus* in a roof of a house (Rufino & Bernardi, 1999), and entering a roof known to contain a large colony of *Molossus rufus* on multiple occasions (Esbérard & Vrcibradic, 2007).

Our record of predation and habitat use in *S. sulphureus*, along with other published accounts (Rufino & Bernardi, 1999; Esbérard & Vrcibradic 2007), indicates that it is likely that this species utilises roofs of human habitations as a hunting strategy due to the abundance of bats as potential prey, as has been reported for *Chlorosoma viridissimum* (Chávez-Arribasplata et al., 2016), *Corallus annulatus* (Lewis et al., 2009), *Philodryas olfersi* (Barros et al., 2015), *Pseudoelaphe flavirufa* (Rainwater & Platt, 1999) and *S. pullatus* (Esbérard & Vrcibradic, 2007).

Snakes play an important role in the ecosystem as predators in middle and higher trophic levels and provide ecosystem services to humans such as biological pest control. The value of snakes as pest controllers lies in the maintenance of pest populations that are potentially harmful to ecosystems or human health, such as rodents and bats (Mittermeier et al., 1992; Noor, 1995). These groups have been shown to be potential natural reservoirs

**Tabla 1.** Registros de eventos e intentos de depredación por serpientes en techos en el Neotrópico.

**Table 1.** Records of snake predation or attempted predation events in roofs in the Neotropics.

Species	Prey	Species of the record	Region	Author
<i>Chlorosoma viridissimum</i>	Bat	<i>Molossus molossus</i>	Madre de Dios, Peru	Chávez-Arribasplata et al., 2016
<i>Clelia clelia</i>	Snake	<i>Boa constrictor</i>	Kartabo, Guyana	Beebe, 1946
<i>Corallus annulatus</i>	Bat	<i>Rhynchonycteris naso</i>	Limón, Costa Rica	Lewis et al., 2009
<i>Cubophis cantherigerus</i>	Lizard	<i>Anolis equestris buidei</i>	Matanzas Province, Cuba	Rodríguez-Cabrera et al., 2016
<i>Philodryas olfersi</i>	Bat	<i>Histiopus velatus</i>	Rio Grande do Sul, Brazil	Barros et al., 2015
<i>Pseudoelaphe flavirufa</i>	Bat	<i>Rhogeessa tumida</i>	Belize	Rainwater & Platt, 1999
<i>Pseudoelaphe flavirufa</i>	Bat	<i>Myotis</i> sp.	Belize	Rainwater & Platt, 1999
<i>Spilotes pullatus</i>	Bat	<i>Molossus rufus</i>	Rio de Janeiro, Brazil	Esbérard & Vrcibradic, 2007
<i>Spilotes sulphureus</i>	Bat	<i>Molossus molossus</i>	Pará, Brazil	Rufino & Bernardi, 1999
<i>Spilotes sulphureus</i>	Bat	<i>Myotis nigricans</i>	Madre de Dios, Peru	This study

of many zoonotic viruses as well as contaminating human residences with their faeces (Luis et al., 2013; Nieto-Rabiela et al., 2019). In the records we found, the majority involve non-venomous snakes, or at least those not of medical significance, while the most common prey species are bats. Therefore, the presence of these snakes in human residences may potentially be highly beneficial, acting as domestic pest controllers, while posing relatively low risk to humans.

Our observation highlights how anthropogenic habitats may provide unique feeding opportunities and how some species of snakes have adapted to utilise them. Given the limited literature on this topic, we encourage further documentation of such predation events to shed more light on the ecological roles of snakes, particularly within anthropogenic environments such as the roofs of human habitations, and their impact on pest populations.

**Acknowledgements.** – We are grateful to Quinn Meyer, owner and Juan Carlos Cárdenas, General Manager of Crees Manu and their team for providing support in the biodiversity surveys at the Manu Learning Centre Biological Station. We thank Edgar L. Marquina-Montesinos for reviewing the first draft of this manuscript. We are also grateful to Pablo J. Venegas for providing comments and suggestions that greatly improved this manuscript.

## CITED LITERATURE

- Alves, M.A.S., C.E.L. Esbérard, M.B. Vecchi, T.F.S. Laurindo & V.C. Thomaz. 2005. *Pseustes sulphureus* (South American Puffing Snake). Diet. Herpetological Review 36:459.
- Andrade, H., R.P.S. Almeida & E.J.R. Dias. 2017. *Spilotes sulphureus* Wagler, 1824 (Squamata: Colubridae): review of distribution and first record in the state of Sergipe, northeastern Brazil. Check List 13:2055.
- Barros, M.A.S., L.C. Pinto, R.O. Pfau, F.F. Kisłowski & M.D. Freire. 2015. *Philodryas olfersii* (Serpentes, Dipsadidae) feeding on bats in Southern Brazil. Revista Brasileira de Biociências 13:231-236.
- Beebe, W. 1946. Field notes on the snakes of Kartabo, British Guiana, and Caripito, Venezuela. Zoologica: Scientific Contributions of the New York Zoological Society 31:11-52.
- Bernarde, P.S. & A.S. Abe. 2010. Hábitos alimentares de serpentes em Espigão do Oeste, Rondônia, Brasil. Biota Neotropica 10:167-173.
- Bocchiglieri, A. & R. Gomes. 2019. *Spilotes sulphureus* (Amazon Puffing Snake). Diet. Herpetological Review 50:167.
- Chávez-Arribasplata, J.C., C.E. Almora, J.J. Pellón & P.J. Venegas. 2016. Bat consumption by *Philodryas viridissima* (Serpentes: Colubridae) in the Amazon Basin of southeastern Peru. Phyllomedusa 15:195-197.
- Cunha, O. R. & F.P. Nascimento. 1993. Ofídios da Amazônia. As cobras da região leste do Pará. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi 9:1-191.
- de Freitas, M.A. 2003. Serpentes Brasileiras. Grupo Unigel, Bahia, Brasil.
- Esbérard, C.E. & D. Vrcibradic. 2007. Snakes preying on bats: new records from Brazil and a review of recorded cases in the Neotropical Region. Revista Brasileira de Zoologia 24:848-853.
- Fischer, E., R.L. Munin, J.M. Longo, W. Fischer & P.R. de Souza. 2010. Predation on bats by Great Kiskadees. Journal of Field Ornithology 81:17-20.
- Jadin, R.C., F.T. Burbrink, G.A. Rivas, L.J. Vitt, C.L. Barrio-Amorós & R.P. Guralnick. 2013. Finding arboreal snakes in an evolutionary tree: phylogenetic placement and systematic revision of the Neotropical birdsnakes. Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research 52:257-264.
- Lewis, T.R., D.J. Nash & P.B.C. Grant. 2009. Predation by *Corallus annulatus* (Boidae) on *Rhynchonycteris naso* (Emballonuridae) in a lowland tropical wet forest, Costa Rica. Cuadernos de Herpetología 23:93-96.
- Luis, A.D., D.T. Hayman, T.J. O'Shea, P.M. Cryan, A.T. Gilbert, J.R.C. Pulliam, J.N. Mills, M.E. Timonin, C.K. Willis, A.A. Cunningham, A.R. Fooks, C.E. Rupprecht, J.L. Wood & C.T. Webb. 2013. A comparison of bats and rodents as reservoirs of zoonotic viruses: Are bats special? Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 280:20122753.
- Marques, O., A. Eterovic & I. Sazima. 2001. Serpentes da Mata Atlântica: Guia ilustrado para a Serra do Mar. Ribeirão Preto, Holos, Brasil.
- Martins, M. & M.E. Oliveira. 1998. Natural history of snakes in forests of the Manaus Region, Central Amazonia, Brazil. Herpetological Natural History 6:78-150.



- Mittermeier, R.A., J.L. Carr, I.R. Swingland, T.B. Werner & R.B. Mast. 1992. Conservation of amphibians and reptiles. Pp. 59-80. In K. Adler (Ed.), *Herpetology: Current Research on the Biology of Amphibians and Reptiles*. Oxford, UK.
- Moratelli, R., A.L. Peracchi, D. Dias & J.A. de Oliveira. 2011. Geographic variation in South American populations of *Myotis nigricans* (Schinz, 1821) (Chiroptera, Vespertilionidae), with the description of two new species. *Mammalian Biology* 76:592-607.
- Nieto-Rabiela, F., A. Wiratsudakul, G. Suzán & O. Rico-Chávez. 2019. Viral networks and detection of potential zoonotic viruses in bats and rodents: a worldwide analysis. *Zoonoses and Public Health* 66:655-666.
- Noor, H.M. 1995. Depredación natural: Una alternativa viable para el control de las plagas vertebradas en Malasia. *Palmas* 16:39-48.
- Rainwater, T.R. & S.G. Platt. 1999. *Elaphe flavirufa* (Tropical Rat Snake). Predation and diet. *Herpetological Review* 30:46.
- Rivas, J.A. & S. Kane. 2003. *Pseustes sulphureus* (Amazon Puffing Snake). Diet. *Herpetological Review* 30:72.
- Rodríguez-Cabrera, T.M., J.T. López, R. Marrero & J.A.P. Martínez. 2016. Predation attempt by the Cuban Racer, *Cubophis cantherigerus* (Squamata: Dipsadidae) on the Cuban Giant Anole, *Anolis equestris buidei* (Squamata: Dactyloidae), a threatened endemic subspecies. *IRCF Reptiles and Amphibians* 23:46-50.
- Rufino, N., & J.A.R. Bernardi. 1999. *Pseustes sulphureus sulphureus* (Papa-Ovo). Diet. *Herpetological Review* 30:103-104.
- Wilson, D.E. 1971. Ecology of *Myotis nigricans* (Mammalia: Chiroptera) on Barro Colorado Island, Panama Canal Zone. *Journal of Zoology* 163:1-13.
- Wilson, D.E. & R.K. LaVal. 1974. *Myotis nigricans*. *Mammalian Species* 39:1-3.



# TAIL BIFURCATION IN A MESQUITE LIZARD *SCELOPORUS GRAMMICUS* (SQUAMATA: PHRYNOSOMATIDAE) IN A POPULATION FROM TOLUCA, MEXICO

## BIFURCACIÓN CAUDAL EN UNA LAGARTIJA DEL MEZQUITE *SCELOPORUS GRAMMICUS* (SQUAMATA: PHRYNOSOMATIDAE) EN UNA POBLACIÓN DE TOLUCA, MÉXICO

Gabriel Suárez-Varón<sup>1,2\*</sup>, Carolina Nava-Almazán<sup>1</sup>, Kenia Itzel Octaviano-Valencia<sup>1</sup>, Edgar de la Rosa-Silva<sup>1</sup>, Gisela Granados-González<sup>2</sup> & Oswaldo Hernández-Gallegos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Herpetología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México, Instituto Literario No. 100, Colonia Centro, Toluca, Estado de México, México, C. P. 50000.

<sup>2</sup>Laboratorio de Morfofisiología de la Reproducción, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México, Instituto Literario No. 100, Colonia Centro, Toluca, Estado de México, México, C. P. 50000.

\*Correspondence: [biogabrielsv@gmail.com](mailto:biogabrielsv@gmail.com)

Received: 2024-04-02. Accepted: 2024-05-28. Published: 2024-07-09.

Editor: César Antonio Ríos-Muñoz, México.

**Resumen.**— Anomalías en la regeneración de la cola se han documentado en diversas familias de lagartijas; sin embargo, la información sobre lacertilios mexicanos es escasa. Aunque *Sceloporus grammicus* es una de las lagartijas más estudiadas en México, aquí documentamos por primera vez la observación de la cola bifurcada en una hembra grávida; además, se incluyen datos sobre la frecuencia de ocurrencia de autotomía caudal en hembras y machos.

**Palabras clave.**— Anomalía, autotomía caudal, lagartija, regeneración de cola.

**Abstract.**— Anomalies in tail regeneration have been documented for various families of lizards; however, information for Mexican lizards is scarce. Although *Sceloporus grammicus* is one of the most studied lizards in Mexico, here we document for the first time the observation of a gravid female with tail bifurcation. In addition, we include data on the frequency of occurrence of caudal autotomy in females and males.

**Keywords.**— Abnormality, caudal autotomy, lizard, tail regeneration.

Caudal autotomy is the capability to drop all or a portion of the tail, is found in many lizard species. This ability is mainly used as a defensive behavior when threatened by a predator (Barr et al., 2021). This phenomenon occurs due to the presence of fracture planes in different regions of the caudal vertebrae associated with tissues where the tail break occurs. Subsequently, the tail regeneration process begins. However, the regenerated tail is not an exact copy of the original, as it involves the replacement of bone by a cartilaginous tube (Lozito & Tuan, 2015). During the regeneration process, anomalies can arise as a result of an injury or an incomplete autotomy event where the original tail remains partially attached (Barr et al., 2021). As a consequence, abnormalities can cause the growth of more than one tail and produce a furcation (Barr et al., 2020).

Tail abnormalities, including bifurcation and trifurcation, have been documented in several families of lizards (see Table S1 in Barr et al., 2020); nevertheless, records in Mexican lizards, are scarce [e.g., *Urosaurus bicarinatus* (Mata-Silva et al., 2013); *Plestiodon copei* (Suárez et al., 2020), and recently in *Aspidoscelis costatus costatus* (De la Rosa-Silva et al., 2023), *Aspidoscelis guttatus* and *Phyllodactylus magnus* (Nieto-Toscano & Cruz-Ramírez 2023)]. In general, information and descriptions about tail status, tail bifurcation, and type of fracture plane are lacking and limited mainly for members of the family Phrynosomatidae [e.g., *Cophosaurus texanus*, *Holbrookia elegans*, *Sceloporus occidentalis*, *Sceloporus uniformis*, *Sceloporus variabilis*, *Urosaurus ornatus*, and *Uta stansburiana* (Barr et al., 2020)].

The viviparous lizard *Sceloporus grammicus*, is widely distributed in Mexico, from sea level up to elevations above 4,000 m. These lizards exploit different microenvironments such as rocks, trees, scrub, walls and human settlements (Leyte-Manrique et al., 2017). This lizard is perhaps the most well-researched in Mexico, with studies that include ecology (Lemos-Espinal & Ballinger, 1995), evolution (Bastiaans et al., 2013), physiology (Rivera-Rea et al., 2023), and genetics (Marshall et al., 2006). Here, we report the first case of tail bifurcation in a population of *S. grammicus* and data on the frequency of occurrence of tail autotomy.

On 29<sup>th</sup> February 2024, we collected lizards at Universidad Autónoma del Estado de México, located in “El Cerrillo, Piedras Blancas”, municipality of Toluca, State of Mexico, Mexico (19.41181° N, 99.70067° W, datum WGS84, 2,605 m a.s.l.). The locality is a suburban area surrounded by fragmented and secondary vegetation, with introduced cattle pasture.

In this study area, we manually captured a pregnant female and measured with a digital caliper (precision 0.01 mm) the snout-vent length (SVL) = 54 mm, and body mass = 5.5 g, obtained with a Pesola® (precision 0.5 g), the female had the tail dorsoventrally bifurcated forming an acute angle; the

bifurcation point was posteriorly located 33 mm from the vent on the original portion of the tail. The length of the dorsal regenerated branch was slightly shorter (9 mm) than ventral side (14 mm); the ventral branch showed a curly shape at the end point of the tail (Fig. 1). The scales from the bifurcated point were less keeled than the original tail. Additionally, during sampling, we collected 70 adult lizards [ $n = 47$  females (45 pregnant), and  $n = 23$  males], the sex ratio was biased to females ( $X^2 = 8.22$ ,  $p = 0.004$ ); of which, 22.8 % ( $n = 11$  females and  $n = 5$  males) had regenerated tails. All captured lizards were released at the collecting site after sampling. Caudal autotomy was mostly detected in females with a slightly higher percentage of regenerated tails (30.5 %) than males (27.8 %) without difference in frequency of occurrence by sex ( $X^2 = 2.25$ ,  $p = 0.13$ ). This suggests that even though females may lose their tails before the gestation, they are more vulnerable to predation during the pregnancy period, contrary to the recorded by Leyte-Manrique et al. (2007), where males have a higher percentage of regenerated tails than females as they are at more risk during courtship and reproduction, this maybe for the asynchronous gonadal activity and differential use of habitat during the reproductive cycle (Jiménez-Cruz et al., 2005). Although the occurrence of tail bifurcation may be common in a species with wide distribution, to our knowledge, this is the first report of a tail abnormality in *S. grammicus*. Also,



**Figure 1.** Pregnant female of *Sceloporus grammicus* with tail bifurcation at el “Cerrillo, Piedras Blancas”, Toluca, Estado de México, México. Photo: Oswaldo Hernández-Gallegos..

**Figura 1.** Hembra grávida de *Sceloporus grammicus* con cola bifurcada en el “Cerrillo Piedras Blancas”, Toluca, Estado de México, México. Foto: Oswaldo Hernández-Gallegos.

this observation suggests incomplete tail autotomy would be caused by a predatory attempt or by an intraspecific encounter.

Our finding is of special interest due to the rarity of detecting these types of phenomena in the natural environment and since different species of lizards use their tails for various purposes, the tail is important for locomotion, balance, foraging, defense, decoy, mating, courtship, fat storage, survival and subjection in lizard species with prehensile tail (Barr et al., 2021; Maglangit et al., 2021). Additionally, tail malformation may hinder locomotion performance and fitness, which increases predatory encounters that affect their survival (Maglangit et al., 2021). Future studies should try to explain the effect of the tail malformation on the performance, and ecological flexibility.

**Acknowledgements.** – We thank the Programa Investigadoras e Investigadores COMECYT Edomex por la cátedra ESYCA2023 – 141617 a GS-V. To the staff at the Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma del Estado de México, especially to Dr. Aaran Aquilino Morales Pérez, for the facilities provided for the completion of this study. We thank the anonymous reviewers who provided valuable comments and suggestions for improving this manuscript.

## CITED LITERATURE

- Barr, J.I., C.A. Boisvert & P.W. Bateman. 2021. At What Cost? Trade-Offs and Influences on Energetic Investment in Tail Regeneration in Lizards Following Autotomy. *Journal of Developmental Biology* 9:53.
- Barr, J.I., R. Somaweera, S.S. Godfrey, M.G. Gardner & P.W. Bateman. 2020. When one tail isn't enough: abnormal caudal regeneration in lepidosaurs and its potential ecological impacts. *Biological Reviews* 95:1479-1496.
- Bastiaans, E., F. Méndez de la Cruz, K. Rodríguez-Hernández, C. Flores-Aguirre & B. Sinervo. 2013. Female reproductive investment in the mesquite lizard (*Sceloporus grammicus*) species complex (Squamata: Phrynosomatidae). *The Southwestern Naturalist* 58:335-343.
- De La Rosa-Silva, E., A. Gómez-Benítez, D. Sánchez-Manjarrez, E. Oviedo-Hernández & O. Hernández-Gallegos. 2023. Balsas Basin Whiptail (*Aspidoscelis costatus costatus*) with Tail Bifurcation. *Sonoran Herpetologist* 36:71-73.
- Jiménez-Cruz, E., A. Ramírez-Bautista, J.C. Marshall, M. Lizana-Avia & A. Nieto-Montes de Oca. 2005. Reproductive cycle of *Sceloporus grammicus* (Squamata: Phrynosomatidae) from Teotihuacán, México. *The Southwestern Naturalist* 50:178-187.
- Lemos-Espinal, J.A. & R.E. Ballinger. 1995. Ecology of Growth of the High Altitude Lizard *Sceloporus grammicus* on the Eastern Slope of Iztaccihuatl Volcano, Puebla, México. *Transactions of the Nebraska Academy of Sciences and Affiliated Societies* 22:77-85.
- Leyte-Manrique, A., A. Ramírez-Bautista & U. Hernández-Salinas. 2007. Contribución a la ecología de *Sceloporus grammicus*: presencia de cola regenerada en dos poblaciones del estado de Hidalgo México. *Boletín de la Sociedad Herpetológica Mexicana* 15:13-15.
- Leyte-Manrique, A., U. Hernández-Salinas, A. Ramírez-Bautista, V. Mata-Silva & J.C. Marshall. 2017. Habitat use in eight populations of *Sceloporus grammicus* (Squamata: Phrynosomatidae) from the Mexican Plateau. *Integrative Zoology* 12:198-210.
- Lozito, T.P. & R.S. Tuan. 2015. Lizard regeneration: regulation of two distinct cartilage regions by Indian hedgehog. *Developmental Biology* 399:249-262.
- Maglangit, E.P.T., R.J.C. Tapdasan, Jr. R.C. Medija, M.F.P. De Alba, L.A. Adamat, O.A. Amparado, O.M. Nuñez, M.L.L. Diesmos & A.C. Diesmos. 2021. New distribution record, ecology and tail trifurcation of *Cyrtodactylus mamaswa* (Gekkonidae) on Dinagat Islands, Philippines. *Herpetozoa* 34:175-181.
- Marshall, J.C., E. Arévalo, E. Benavides, J.L. Sites & J.W. Jr. Sites. 2006. Delimiting species: comparing methods for Mendelian characters using lizards of the *Sceloporus grammicus* (Squamata: Phrynosomatidae) complex. *Evolution* 60:1050-1065.
- Mata-Silva, V., A. Rocha, J.D. Johnson & L.D. Wilson. 2013. *Urosaurus bicarinatus* (Tropical Tree Lizard). Bifurcation. *Herpetological Review* 44:686-687.
- Nieto-Toscano, L.F. & K. Cruz-Ramírez. 2023. Two cases of tail bifurcation in lizards endemic to Mexico: the Yellow-bellied gecko, *Phyllodactylus magnus* Taylor 1942, and the Mexican racerunner, *Aspidoscelis guttatus* (Wiegmann 1834). *Reptiles & Amphibians* 30:e19784.



Rivera-Rea, J., L. Macotela, G. Moreno-Rueda, G. Suárez-Varón, E. Bastiaans, E. Quintana & J.C. González-Morales. 2023. Thermoregulatory behavior varies with altitude and season in the sceloporine mesquite lizard. *Journal of Thermal Biology* 114:103539.

Suárez-Rodríguez, O., G. Suárez-Varón, M. Marín Vera & C.M. Watson. 2020. Tail bifurcation in *Plestiodon copei* (Taylor, 1933) (Squamata: Scincidae). *Revista Latinoamericana de Herpetología* 3:143-146.



# NUEVOS REGISTROS DE *METLAPILCOATLUS INDOMITUS* (SERPENTES: VIPERIDAE) EN HONDURAS, CON COMENTARIOS SOBRE SU REPRODUCCIÓN

## NEW RECORDS OF *METLAPILCOATLUS INDOMITUS* (SERPENTES: VIPERIDAE) IN HONDURAS, WITH COMMENTS ON ITS REPRODUCTION

Oscar R. Suazo-Ortega<sup>1\*</sup>, Jocelyn A. Castro<sup>2</sup> & Cesar Molina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Escuela de Biología, Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Bulevar Suyapa, Tegucigalpa MDC, Honduras

<sup>2</sup>Centro Nacional de Conservación y Recuperación de Especies Rosy Walther, El Picacho, Tegucigalpa MDC, Honduras

\*Correspondence: [oscarsuazo24@gmail.com](mailto:oscarsuazo24@gmail.com)

**Received:** 2024-02-04. **Accepted:** 2024-05-23. **Published:** 2024-07-09.

**Editor:** Adriana Manzano, Argentina.

**Abstract.** – We report the first records of *Metlapilcoatlus indomitus* for the department of Comayagua from a collected specimen and a photographic record. We discuss its presence in western and central Honduras, in addition to the existing records in Nicaragua and we comment on the known data of the reproductive biology of the genus *Metlapilcoatlus* in Honduras.

**Keywords.** – Co-endemic species, pine-oak forest, viperids, reproductive biology.

**Resumen.** – Reportamos los primeros registros de *Metlapilcoatlus indomitus* para el departamento de Comayagua a través de un espécimen recolectado y un registro fotográfico. Discutimos sobre su presencia en el occidente y centro de Honduras, además de los registros existentes en Nicaragua y comentamos sobre los datos conocidos de la biología reproductiva del género *Metlapilcoatlus* en el país.

**Palabras clave.** – Especie co-endémica, bosque de pino-encino, vipéridos, biología reproductiva.

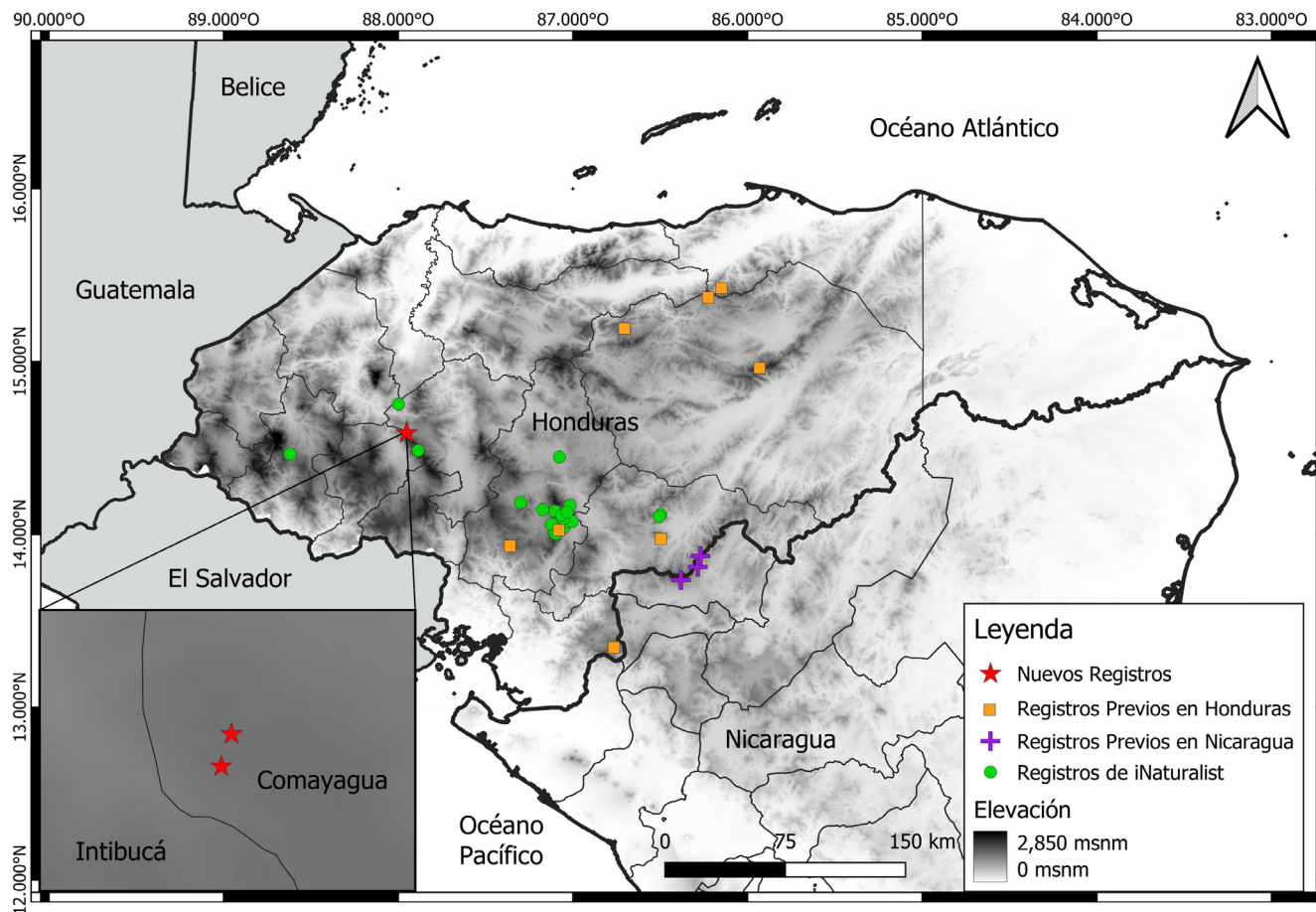
El género *Metlapilcoatlus* Campbell, Frost & Castoe, 2019 se distribuye a través de Mesoamérica, en Honduras se encuentran dos especies: *Metlapilcoatlus mexicanus* Duméril, Bibron & Duméril, 1854 y *Metlapilcoatlus indomitus* Smith & Ferrari-Castro, 2008, esta última es una especie co-endémica de Honduras y Nicaragua (Crowell et al., 2023; Martínez-Fonseca et al., 2024). Es una serpiente de tamaño mediano con una longitud total reportada de 658 mm en hembras y 639 mm en machos (ver McCranie et al., 2013) y con un cuerpo bastante grueso, que presenta manchas en forma de diamante en la parte dorsal (McCranie, 2011).

Esta especie se diferencia de *M. mexicanus* por presentar de 133-140 escamas ventrales y una distintiva marca subocular oscura (vs. 114-130 ventrales en machos, 116-135 ventrales en hembras y ausencia de marca subocular oscura en *M. mexicanus*) y se diferencia de *Cerrophidion wilsoni* por presentar 23-25 escamas a la mitad del cuerpo, escamas supraoculares

reducidas, numerosas escamas supracefálicas distintivamente tuberculadas (vs. 21 escamas a la mitad del cuerpo y grandes supraoculares presentes en *C. wilsoni*) (McCranie, 2011; Jadin et al., 2012). Sobre la dieta de *M. indomitus*, únicamente se ha registrado su alimentación de *Peromyscus* sp. (ver McCranie et al., 2013) y de *Cryptotis orophila* (Crowell et al., 2023). Esta especie esta categorizada Amenazada (EN) según la lista roja de la UICN (Wilson & Townsend, 2022).

En Honduras, *M. indomitus* se conoce para las siguientes localidades: Sierra de Botaderos (Localidad tipo; Smith & Ferrari-Castro, 2008) en el departamento de Colón; Sierra La Muralla (Smith & Ferrari-Castro, 2008), Parque Nacional Sierra de Agalta (Medina-Flores et al., 2016) y la parte centro-norte (McCranie, 2011) en el departamento de Olancho; San Juan de Ojojona (Solís et al., 2017) y la Reserva Biológica Uyuca (Van den Berghe et al., 2020) en el departamento de Francisco Morazán; en la Reserva Biológica La Botija, Cerro El Picacho, San Marcos





**Figura 1.** Mapa de distribución de *Metlapilcoatlus indomitus* en Honduras y Nicaragua. Incluimos registros de iNaturalist verificados con grado de investigación y registros previos de literatura.

**Figure 1.** Map of the distribution of *Metlapilcoatlus indomitus* in Honduras and Nicaragua. We included iNaturalist records verified with a research grade status and previous records from literature.

de Colón (Solís et al., 2017) en el departamento de Choluteca y Cerro Quebra Cajón (McCranie et al., 2013) en el departamento de El Paraíso. Las localidades conocidas para Nicaragua son: Cerro Wambuco (Sunyer et al., 2014), Cerro Mogotón (Sunyer et al., 2017) y Las Brisas del Mogotón (Crowell et al., 2023; Martínez-Fonseca et al., 2024) en el departamento de Nueva Segovia. Se sabe que esta especie habita en formaciones de bosque húmedo premontano y bosques de pino-encino del centro-sur, sureste y noreste de Honduras (McCranie et al., 2013; Solís et al., 2017). El rango de elevación de *M. indomitus* va de 670 a 1,910 m s.n.m. (Medina-Flores et al., 2016; Solís et al., 2017). Aquí, reportamos los dos primeros registros de *M. indomitus* para el departamento de Comayagua y el primer registro de una hembra grávida en estado silvestre.

El primer individuo UTADC 9997 (Fig. 2C) fue encontrado el 11 de diciembre del 2021 en Las Galeas, Aldea El Rincón, Municipalidad de Siguatepeque, Departamento de Comayagua, Honduras a 1365 msnm (14.586025° N, 87.951803° W, WGS84 datum; Fig. 1). El ejemplar fue encontrado por campesinos de la zona al pie de un árbol; este fue identificado como *M. indomitus* basados únicamente en el patrón de coloración. Sin embargo, no se tomaron datos morfométricos ya que el individuo no pudo ser recolectado. El segundo individuo (Fig. 2A), fue encontrado el 30 de marzo del 2022 en Las Galeas, Aldea El Rincón, Municipalidad de Siguatepeque, Departamento de Comayagua, Honduras a 1,370 m s.n.m. (14.586972° N, 87.951500° W, WGS84 datum; Fig. 1). El ejemplar fue encontrado por un campesino de la zona, mientras intentaba esconderse en la hojarasca. Se



**Figura 2.** A) CZB-HSE063 fotografiado después de haber sido encontrado. B) CZB-HSE063 después de la disección en la parte ventral, se muestran los sacos embrionarios. C) Individuo de *Metlapilcoatlus indomitus* UTADC 9997 encontrado el 11 de diciembre del 2021. Foto: Don Nahún de la comunidad de Las Galeas.

**Figure 2.** A) CZB-HSE063 photographed after being found. B) CZB-HSE063 after the dissection in the ventral side, the embryonic sacs are shown. C) Individual of *Metlapilcoatlus indomitus* UTADC 9997 found the 11 of December of 2021. Photo: Don Nahún from the community of Las Galeas.

le tomaron datos morfométricos (Tabla 1), y se procedió a hacer una disección en la parte ventral, donde se descubrió que se trataba de una hembra grávida con 8 sacos embrionarios en los cuales no se distinguían embriones formados (Fig. 2B). Este espécimen fue depositado en la colección herpetológica del Centro Zamorano de Biodiversidad en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Valle de Yeguare, departamento de Francisco Morazán, Honduras (CZB-HSE063), bajo el permiso ICF-DVS-016-2023 emitido por el Departamento de Vida Silvestre del Instituto Nacional de Conservación Forestal (ICF).

Los registros aquí reportados de *M. indomitus* son los primeros dos para el departamento de Comayagua, por lo que actualizamos la distribución de esta especie para Honduras. La localidad de estos registros se encuentra a 96 km al noroeste de la localidad más cercana reportada en San Juan de Ojojona, departamento de Francisco Morazán. Además, existen dos

registros para los departamentos de Intibucá (<https://www.inaturalist.org/observations/35497963>) y Lempira (<https://www.inaturalist.org/observations/119873325>), lo que indica la presencia de *M. indomitus* en el occidente del país. Solís et al. (2017) menciona que el bosque de pino-encino cubre 4.5 millones de hectáreas de la región central de Honduras, por lo que era de esperar encontrarse *M. indomitus* en las áreas de bosque de pino-encino en el departamento de Comayagua. Nuestros registros se ubican dentro de lo que se conoce como bosque de pino-encino del altiplano que va desde los 600-1,500 m s.n.m. (Townsend & Wilson, 2007), rango de elevación que concuerda con el reportado para *M. indomitus*, y completan la brecha de distribución de esta especie para la región central del país. En Nicaragua, *M. indomitus* fue reportada erróneamente identificada como *M. mexicanus* y como *C. wilsoni* (Sunyer et al., 2014; Sunyer et al., 2017) hasta que Martínez-Fonseca et al. (2024) publicó el primer registro confirmado de un espécimen (UMMZ

**Tabla 1.** Comparación de la morfometría de nuestro espécimen hembra de *Metlapilcoatlus indomitus* CZB-HSE063, basados en el paratipo hembra de Smith & Ferrari-Castro (2008). Para longitud hocico-cloaca y longitud de la cola/longitud total, ver McCranie (2011). Para escamas subcaudales y escamas dorsales, ver McCranie et al. (2013).

**Table 1.** Comparison of the morphometrics of our female specimen of *Metlapilcoatlus indomitus* CZB-HSE063, based on the female paratype of Smith & Ferrari-Castro (2008). For snout-vent length and snout-vent length/total length, see McCranie (2011). For subcaudal scales and dorsal scales, see McCranie et al. (2013).

Morfometría	CZB-HSE063	Smith & Ferrari-Castro (2008)
Longitud total	550 mm	549 mm
Longitud hocico-cloaca	490 mm	222-495 mm
Longitud de la cola/longitud total	0.115	0.106-0.119
Longitud de la cabeza	30.67 mm	38.5 mm
Ancho de la cabeza	24.11 mm	20 mm
Escamas ventrales	140	140
Escamas subcaudales	33	28-38
Escamas infralabiales	12/12	12/12
Escamas gulares	5 pares	4 pares
Escamas dorsales	25-23-19	26-25-21 (23-25 escamas en la mitad del cuerpo)

247136) de *M. indomitus* para Nicaragua y ha sido incluida en el listado actual de reptiles y anfibios para Nicaragua (Sunyer & Martínez-Fonseca, 2024).

*Metlapilcoatlus occiduus* es considerado un taxón hermano de *M. indomitus*, estas dos especies forman un clado (Castoe et al., 2005; McCranie et al., 2013). *Metlapilcoatlus occiduus* se encuentra distribuida desde el sureste de Chiapas (México), la parte central y sur de Guatemala hasta el oeste de El Salvador (Campbell & Lamar, 2004; García-Padilla, 2015). Debido a que *M. indomitus* y *M. occiduus* han presentado pocas diferencias en análisis morfológicos y moleculares (Jadin et al., 2010; Tepos-Ramírez et al., 2021), y además que McCranie (2011) sugiere la posibilidad de que *M. occiduus* pueda encontrarse en Honduras, consideramos que los individuos del género *Metlapilcoatlus* encontrados en el occidente de Honduras deben ser revisados detalladamente.

Los estudios existentes sobre la reproducción de los vipéridos neotropicales son escasos (Almeida-Santos & Salomão, 2002; Bisneto & Kaefer, 2019), por lo que se desconoce sobre la biología reproductiva de este grupo, especialmente sobre las especies descritas recientemente. Los únicos datos conocidos sobre la biología reproductiva del género *Metlapilcoatlus* en Honduras, se trata de estudios realizados con individuos en cautiverio de *M. mexicanus* (Cruz Díaz et al., 1989) y *M. indomitus* (Zúniga López & Paz, 2021). Uno de nuestros registros representa el primer caso conocido sobre una hembra grávida en estado silvestre para Honduras, lo cual es un dato valioso para conocer

sobre la reproducción de esta víbora en vida silvestre. Según el estudio de Zúniga López & Paz (2021) se trató de un individuo hembra de mayor tamaño (750 mm - 770 mm) que produjo una mayor cantidad de neonatos (14-26) en comparación a la cantidad de sacos embrionarios (8 sacos) en nuestro individuo de menor tamaño (550 mm). Silva et al. (2019) menciona que la maduración sexual tardía y grandes tamaños en el cuerpo de las hembras permite una producción de camadas más grandes. Los ciclos reproductivos estacionales resultan ser una característica de los vipéridos neotropicales (Solorzano, 1989; Almeida-Santos et al., 2017; Lara-Hernández & Vásquez-Cruz, 2018), donde aparentemente la mayoría de partos ocurren en la estación lluviosa (Solorzano, 1997; Solorzano & Cerdas, 1998; Almeida-Santos & Salomão, 2002; Monteiro et al., 2006). Todos los partos de *M. indomitus* reportados por Zúniga López & Paz (2021) ocurrieron en junio, al igual que un parto en cautiverio de *Pothidium ophryomegas* reportado por Turcios-Casco et al. (2020), coincidiendo estos con el inicio de la temporada lluviosa en Honduras. Además, Zúniga López & Paz (2021) mencionan un evento de cópula observado en octubre, por lo que sugieren que el periodo de gestación de *M. indomitus* es similar al reportado por Cruz Díaz et al. (1989) para *M. mexicanus*. Nuestro registro de una hembra grávida concuerda con los ciclos reproductivos anteriormente reportados para algunos vipéridos neotropicales y concuerda con el periodo de gestación *ex situ* reportado para *M. indomitus*. Consideramos que se deben seguir realizando esfuerzos para obtener más información sobre la biología

reproductiva en estado silvestre, comportamiento e historia natural de los vipéridos en Honduras.

**Agradecimientos.**– Agradecemos a Vivian Cabrera y Alejandro Salguero del Departamento de Biología de la UNAH por permitirnos trabajar en sus laboratorios. Damos las gracias al Dr. Eric van den Berghe y a Ricardo Peraza del Centro Zamorano de Biodiversidad de la EAP Zamorano por facilitarnos el número de voucher de nuestro espécimen, también a Gregory Pandelis de la Universidad de Texas en Arlington por brindarnos el número de voucher para el registro fotográfico. Estamos agradecidos con Marcio Martínez del Departamento de Vida Silvestre del ICF por facilitarnos la constancia de aprobación para la colecta del espécimen y publicación de nuestro trabajo. Además, agradecemos a Christopher Antúnez, Walter Alvarado y Geraldina Rivera por los valiosos comentarios para mejorar nuestro trabajo, también a don Nahún de la comunidad de Las Galeas por compartirnos su registro fotográfico. JAC agradece a Francisco Hernández por su apoyo incondicional. ORSO agradece a Soraydi Avelar por su apoyo y motivación.

## LITERATURA CITADA

- Almeida-Santos, S.M. & M.D.G. Salomão. 2002. Reproduction in neotropical pitvipers, with emphasis on species of the genus *Bothrops*. *Biology of the Vipers* 1:445-462.
- Almeida-Santos, S.M., V.A. Barros, C.A. Rojas, L.R. Sueiro & R.H.C. Nomura. 2017. Reproductive biology of the Brazilian lancehead, *Bothrops moojeni* (Serpentes, Viperidae), from the state of Sao Paulo, Southeastern Brazil. *South American Journal of Herpetology* 12:174-181.
- Bisneto, P. F. & I.L. Kaefer. 2019. Reproductive and feeding biology of the common lancehead *Bothrops atrox* (Serpentes, Viperidae) from central and southwestern Brazilian Amazonia. *Acta Amazonica* 49:105-113.
- Campbell, J.A. & W.W. Lamar. 2004. *Venomous Reptiles of the Western Hemisphere*. 2 Volumes. Comstock Publishing Associates, Cornell University Press, Ithaca, New York, New York, USA.
- Castoe, T.A., M.M. Sasa & C.L. Parkinson. 2005. Modeling nucleotide evolution at the mesoscale: The phylogeny of the Neotropical pitvipers of the *Porthidium* group (Viperidae: Crotalinae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37:881-898.
- Crowell, H.L., C.W. Thompson, R.S. Nagesan, J.G. Martínez-Fonseca, I.A. Holmes, E.P. Hofmann & M. Fernández-Mena. 2023. *Metlapilcoatlus indomitus* (Honduras Jumping Pit Viper). *Diet. Herpetological Review* 54:489-490.
- Cruz Díaz, G.A., A. Soto & R.V. Bermúdez. 1989. Reproducción de *Bothrops asper* y *B. nummifer* en Honduras (Serpentes: Viperidae). *Revista de Biología Tropical* 37:201-202.
- García-Padilla, E. 2015. Predation event and distributional record for *Atropoides occiduus* (Hoge, 1966). *Miscellaneous Notes. Mesoamerican Herpetology* 2:376-377.
- Jadin, R.C., R.L. Gutberlet & E.N. Smith. 2010. Phylogeny, evolutionary morphology, and hemipenis descriptions of the Middle American jumping pitvipers (Serpentes: Crotalinae: *Atropoides*). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 48:360-365.
- Jadin, R. C., J.H. Townsend, T.A. Castoe & J.A. Campbell. 2012. Cryptic diversity in disjunct populations of Middle American Montane Pitvipers: a systematic reassessment of *Cerrophidion godmani*. *Zoologica Scripta* 41:455-470.
- Lara-Hernández, F.A & V. Vásquez-Cruz. 2018. Reproducción de la serpiente tepoxo, *Atropoides nummifer* (Serpentes: Viperidae), en cautiverio. *Revista Latinoamericana de Herpetología* 1:29-34.
- Martínez-Fonseca, J.G., I.A. Holmes, J. Sunyer, E.P. Westeen, M.R. Grundler, P.A. Cerda, M.A. Fernandez-Mena, J.C. Loza-Molina, I.V. Monagan Jr., D. Nondorf, G.G. Pandelis & A.R.D. Rabosky. 2024. A collection and analysis of amphibians and reptiles from Nicaragua with new country and departmental records. *Check List* 20:58-125.
- McCranie, J.R. 2011. *The Snakes of Honduras: Systematics, Distribution, and Conservation*. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Ithaca, New York, New York, USA.
- McCranie, J.R., L. Valdez-Orellana & M.S. Coleman. 2013. Morphological and molecular variation in the endemic and poorly known Honduran Jumping Pitviper *Atropoides indomitus* (Serpentes: Viperidae), with notes on distribution. *Herpetological Review* 44:37-40.
- Medina-Flores, M., J.L. Murillo & J.H. Townsend. 2016. *Atropoides indomitus* (Honduran Jumping Pitviper). *Herpetological Review* 47:261.



- Monteiro, C., C.E. Montgomery, F. Spina, R.J. Sawaya & M. Martins. 2006. Feeding, reproduction, and morphology of *Bothrops mattogrossensis* (Serpentes, Viperidae, Crotalinae) in the Brazilian Pantanal. *Journal of Herpetology* 40:408-413.
- Silva, K.M., K.B Silva, L.R Sueiro, M.E.E Oliveira & S.M. Almeida-Santos. 2019. Reproductive biology of *Bothrops atrox* (Serpentes, Viperidae, Crotalinae) from the Brazilian Amazon. *Herpetologica* 75:198-207.
- Smith, E.N. & J.A. Ferrari-Castro. 2008. A new species of jumping pitviper of the genus *Atropoides* (Serpentes: Viperidae: Crotalinae) from the Sierra de Botaderos and the Sierra La Muralla, Honduras. *Zootaxa* 1948:57-68.
- Solís, J.M., M.R. Espinal, E. Wostl, J.M. Mora, L.G. Zúniga & J. Bonilla. 2017. New distribution and habitat records for *Atropoides indomitus* (Serpentes: Viperidae), a Honduran endemic. Honduras, Francisco Morazán, Choluteca. *Mesoamerican Herpetology* 4:988-992.
- Solórzano, A. 1989. Distribución y aspectos reproductivos de la mano de piedra, *Bothrops nummifer* (Serpentes: Viperidae), en Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 37:133-137
- Solórzano, A. 1997. Reproducción de la toboba de árbol, *Bothriechis nigroviridis* (Serpentes: Viperidae), en Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 45:1675-1677.
- Solórzano, A. & L. Cerdas. 1988. Biología reproductiva de la cascabel centroamericana *Crotalus durissus durissus* (Serpentes: Viperidae) en Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 36:221-226.
- Sunyer, J., C. Jirón, A.A. Acosta Antón & A.A. Gutiérrez Rodríguez. 2017. Distribution notes: *Cerrophidion wilsoni* Jadin, Townsend, Castoe, and Campbell, 2012. *Mesoamerican Herpetology* 4:967-969.
- Sunyer, J., J.G.M. Fonseca, M.A. Fernández, M.F.U. Olivas & L.A. Obando. 2014. Noteworthy snake records from Nicaragua (Reptilia: Serpentes). *Check List* 10:1134-1147.
- Sunyer, J., & J.G. Martínez-Fonseca. 2024. A country checklist to the amphibians and reptiles of Nicaragua. *Revista Nicaragüense de Biodiversidad* 100:1-71.
- Tepos-Ramírez, M., O. Flores-Villela, J.A. Velasco, C.P. Lara, O.R. García Rubio & R.C. Jadin. 2021. Molecular phylogenetics and morphometrics reveal a new endemic jumping pitviper (Serpentes: Viperidae: *Metlapilcoatlus*) from the Sierra Madre Oriental of Mexico. *Journal of Herpetology* 55:181-191.
- Turcios-Casco, M. A., A. Velásquez, N.W. Casco-Raudales & J.A. Soler-Orellana. 2020. Notes on the reproduction and thermal biology of *Porthidium ophryomegas* (Serpentes: Viperidae). *Phyllomedusa: Journal of Herpetology* 19:253-257.
- Van den Berghe, E., A. Ramos & J. Townsend. 2020. Geographic Distribution. *Metlapilcoatlus indomitus* (Honduran Jumping Pitviper). *Herpetological Review* 51:546-547.
- Wilson, L.D. & J.H. Townsend. 2007. The biogeography and conservation of the herpetofauna of the upland pine-oak forest of Honduras. *Biota Neotropical* 7:137-148.
- Wilson, L.D. & J.H. Townsend. 2022. *Atropoides indomitus* (amended version of 2014 assessment). The IUCN Red List of Threatened Species 2022: e.T203656A217781535. <https://www.iucnredlist.org>. [Consultado en Mayo 2024]
- Zúniga López, L.G., & M.A. Paz. 2021. First Data of Reproductive Biology of *Metlapilcoatlus indomitus* (Serpentes: Viperidae) in Captivity. *Caribbean Journal of Science* 51:92-100.



# DNA BARCODES AND DIVERSITY OF AMPHIBIANS AND REPTILES IN AGROECOSYSTEMS OF THE COLOMBIAN ANDES

## CÓDIGOS DE BARRAS DE ADN Y DIVERSIDAD DE ANFIBIOS Y REPTILES EN UN AGROECOSISTEMA DE LOS ANDES COLOMBIANOS

Xilena Rueda-Isaza<sup>1</sup>, Jhan C. Carrillo-Restrepo<sup>2</sup>, Susan Saavedra-Porras<sup>3</sup>, Juan M. Martínez-Cerón<sup>2</sup> & Juan F. Díaz-Nieto<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Colección Biológica Universidad EAFIT, Centro de Laboratorios, Escuela de Ciencias Aplicadas e Ingeniería, Universidad EAFIT, Carrera 49 No. 7 sur-50, Medellín, Antioquia, Colombia.

<sup>2</sup>Grupo Biodiversidad, Evolución y Conservación (BEC), Área Sistemas Naturales y Sostenibilidad, Escuela de Ciencias Aplicadas e Ingeniería, Universidad EAFIT, Carrera 49 No. 7 sur-50, Medellín, Antioquia, Colombia.

<sup>3</sup>Investigación, desarrollo e Innovación, Avofruit S.A.S BIC - CARTAMA S.A.S.

\*Correspondence: [jdiazni@eafit.edu.co](mailto:jdiazni@eafit.edu.co)

Received: 2024-01-26. Accepted: 2024-05-13. Published: 2024-07-12.

Editor: Julián A. Velasco, México.

**Resumen.**– Buscamos caracterizar la diversidad de anfibios y reptiles desde una perspectiva ecológica, molecular y evolutiva asociada con plantaciones de aguacate cv. Hass (*Persea americana*) en el departamento de Risaralda, Colombia. Se implementaron dos períodos de muestreo entre 2019 y 2020 utilizando el muestreo por encuentros visuales; se utilizaron curvas de rarefacción y estimadores de riqueza de especies para evaluar la completitud del muestreo. La identificación del material se basó en caracteres morfológicos y en métodos de secuenciación de DNA para el marcador mitocondrial citocromo C oxidasa subunidad I (COI). Además, utilizamos secuencias de COI para construir filogenias y evaluar la diversidad filogenética (PD) de la comunidad. Se registraron siete especies de anfibios y 18 de reptiles, para las cuales se obtuvieron 49 secuencias de COI, de las cuales 15 representan el primer registro para Colombia. También encontramos 12 casos de incongruencia entre los métodos de identificación morfológica y de secuenciación de DNA, y proporcionamos una discusión sobre la identificación correcta. Finalmente, aunque comúnmente observamos una relación positiva entre la riqueza de especies y la PD, también encontramos que la PD puede proporcionar información valiosa cuando los valores de riqueza de especies no son informativos al comparar dos comunidades. Nuestros resultados respaldan la necesidad de un mayor esfuerzo de muestreo en el área para reconocer su verdadera diversidad, ya que esto permitirá una mejor comprensión de las dinámicas complejas presentes en paisajes modificados. Además, concluimos sobre el gran aporte de los estudios de secuenciación de DNA a una pequeña escala geográfica y soportamos el uso del marcador COI como una fuente adecuada de información para la identificación de especies y evaluación de la diversidad de comunidades desde una perspectiva histórica.

**Palabras clave.**– Diversidad filogenética, aguacate, *Persea americana*, códigos de barra, BOLD, Suramérica, herpetofauna, identificación de especies.

**Abstract.**– We aim to characterize the diversity of amphibians and reptiles associated with plantations of avocado cv. Hass (*Persea americana*) in the department of Risaralda, Colombia from an ecological, molecular, and evolutionary perspective. Two sampling periods were implemented between 2019 and 2020 using visual encounter surveys; rarefaction curves and species richness estimators were used to evaluate the completeness of the sampling. Identification of the material was based on both morphological characters as well as DNA barcoding methods sequencing the mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I (COI) marker. We also used the

COI sequences to construct phylogenies and evaluate the phylogenetic diversity (PD) of the community. Seven amphibian and 18 reptile species were recorded, for which 49 COI sequences were obtained, 15 of which represent the first sequence barcoding records for Colombia. We also found 12 instances of incongruence between the morphological and DNA barcoding identification methods, and we provide a discussion on the correct identification. Finally, although we commonly observed a positive relationship between species richness and PD, we also found that PD can provide valuable information when species richness values are uninformative at comparing two communities. Our results support the need for a greater sampling effort in the area to recognize its true diversity, as this will allow a better understanding of the complex dynamics present in modified landscapes. Also, we conclude with the great contribution of DNA barcoding studies at a small geographical scale and support the use of the COI marker as a suitable source of information for species identification and evaluating the diversity of communities from a historical perspective.

**Keywords.-** Phylogenetic diversity, avocado, *Persea americana*, BOLD, South America, herpetofauna, species identification.

## INTRODUCTION

Amphibians and reptiles are groups of vertebrates that, although widely distributed on the planet, experience their most outstanding diversity in the Neotropics, mainly in lowland rainforests and cloud forests (Uetz, 2020; Frost, 2023). Colombia is the second and third most diverse country worldwide for amphibians (863 species) and reptiles (617 species), respectively (Pérez-Santos & Moreno 1988; Acosta-Galvis, 2000; Uetz, 2020; Frost, 2023). Such diversity has been the result of multiple historical processes that determine the diversification of species (Wiens, 2011), and the identification of resultant patterns from an evolutionary dimension can be achieved through the concept of phylogenetic diversity (PD) (Faith, 1992). Thanks to the theoretical and practical advances of phylogenetic systematics, it is possible to understand the relative importance of evolutionary and ecological forces in shaping biological communities (Martin, 2002; Webb et al., 2002; Cavender-Bares & Wilczek, 2003). Studies on PD have focused mainly on groups such as plants, birds, and mammals, and assemblages at large geographic scales or in priority areas for conservation (Posadas et al., 2001; Webb et al., 2002), whereas understanding and describing the PD of communities at local scales, especially in amphibians and reptiles, or in agroecological systems, has received very little attention.

Although intuitive, to understand the historical processes that have shaped ecological communities, it is necessary to clearly define the species composition of such assemblages; nonetheless, our knowledge on the distribution of species is still sparse, and the species identification of groups with complex morphology and taxonomy remains a challenge. For instance, the composition and structure of amphibian and reptile communities associated with coffee plantations (in the northern Andes) are well documented (Paéz et al., 2002; Palacio-Baena et al., 2006; Rojas-Morales et al., 2011; Rojas-Morales et al., 2014; Vargas-Salinas & Aponte-Gutiérrez, 2016; Román-Palacios et al.,

2017; Duarte-Marín et al., 2018); however, other areas above the coffee line (~1,800 m a.s.l.) have received less attention (Rueda-Almonacid, 1999; Bernal & Lynch, 2008), and no sampling that documents the diversity of these lineages in highland regions dedicated to agriculture has been implemented. Consequently, to recognize the diversity of this region, it is of utmost importance not only to develop biotic inventories, but also to implement rigorous methods for species identification.

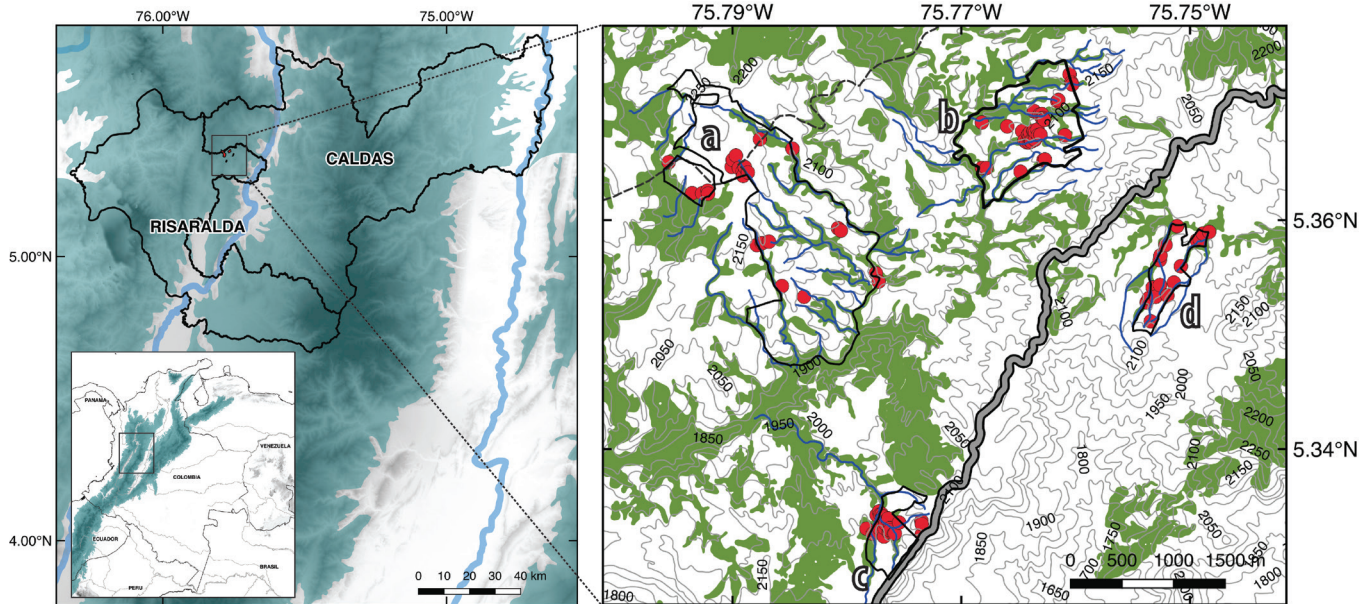
In this case, DNA barcoding provides an operational framework for species identification, increasing the speed, objectivity, and efficiency of the process (Hebert et al., 2003; Collins et al., 2012). However, despite its relevance, the herpetological diversity present in Colombia is poorly represented in the Barcode of Life data system (BOLD Systems, <https://www.boldsystems.org/>; see Guarnizo et al., 2015; Gaytán et al., 2020), and thus the creation of DNA barcodes for this fauna is essential. Herein, we developed an inventory of amphibians and reptiles in forests associated with avocado (*Persea americana*) cv. Hass plantations and used DNA barcodes to corroborate the taxonomic identity of the species. Subsequently, we implemented the PD as a measure to compare the diversity between sampling sites.

## MATERIALS AND METHODS

### Study site

Fieldwork was done in four production units (PU) —Huertos, Pradera, Teresita, Playa Rica— of avocado (*Persea americana*) cv. Hass on the eastern slope of the Western Cordillera of Colombia (Department of Risaralda, municipalities of Guática and Quinchía; Fig. 1). The four PUs are close to each other (1.5–3.0 km apart) and have a total area of 3,560,000 m<sup>2</sup>, of which 940,000 m<sup>2</sup> (26.5 %) are forests (Huertos: 2,320,000 m<sup>2</sup> total area, 30.0 % forest cover; Pradera: 250,000.0 m<sup>2</sup>, 18.0 % forest; Teresita:





**Figura 1.** Izquierda: Área de estudio en Colombia y el departamento de Risaralda. Derecha: Detalle de las Unidades Productivas (Huertos, A; Playa Rica, B; Pradera, C; Teresita, D) mostrando cobertura forestal (verde), cuerpos de agua (azul), puntos de muestreo (rojo) y caminos primarios (gris).

**Figure 1.** Left: Study area in Colombia and the department of Risaralda. Right: Detail of the Productive Units (Huertos, A; Playa Rica, B; Pradera, C; Teresita, D) showing forest cover (green), water bodies (blue), sampling points (red), and primary roads (gray).

210,000.0 m<sup>2</sup>, 9.0 % forest; Playa Rica: 780,000.0 m<sup>2</sup>, 23.0 % forest). The landscape is composed of a matrix of avocado trees and native forest fragments in different successional stages (Fig. 2). The life zone corresponds to humid montane forest (bh-M), ranging in elevation between 1,900–2,300 m a.s.l., with a mean annual temperature between 15–17 °C and annual precipitation between 2,200–2,500 mm (Fick & Hijmans, 2017).

### Fieldwork

Two sampling periods were conducted, the first during the rainy season (between November 4<sup>th</sup> and 28<sup>th</sup> of 2019) and the second during the dry season (February 5<sup>th</sup> and 29<sup>th</sup> of 2020). The sampling effort was homogeneous across the four PUs, with the same number of hours/person/day at each PU (nine h/2 researchers/day). We implemented visual encounter surveys (VES) to detect and capture amphibians and reptiles (Crump & Scott, 1994; Urbina-Cardona et al., 2015).

Because the total area of the four PUs was small, the quadrat traversal method was implemented at predefined time intervals, covering diurnal (07:00–10:00 and 12:00–14:00) and nocturnal (20:00–02:00 am) periods (Corn & Bury, 1990; Aguirre-León, 2011). Different available microhabitats were sampled (e.g., leaf litter, tree trunks, stones, and streams) to eliminate the effect of ecological specialization on detectability.

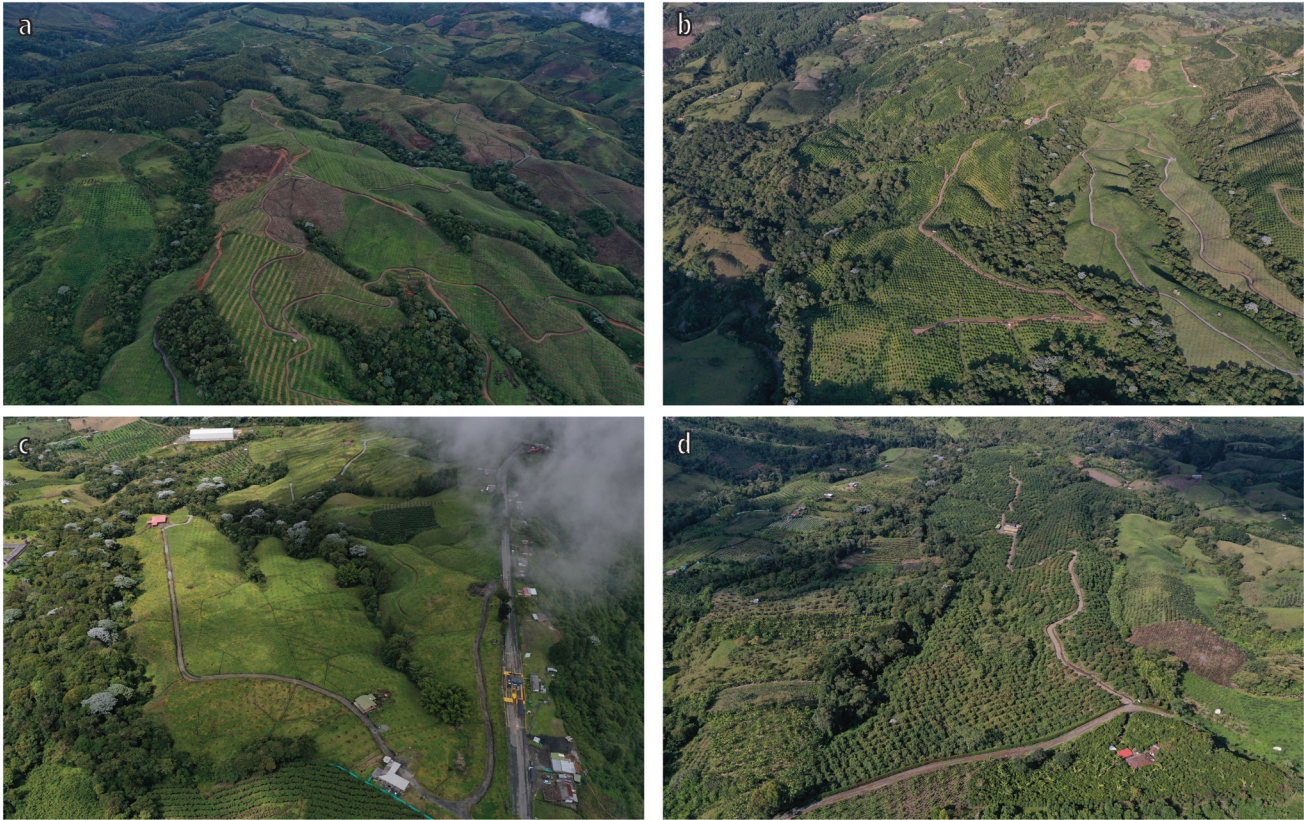
### Specimen collection and taxonomic identification

For each individual, we recorded sex, age class, date, time, geographic coordinates, elevation, and a description of the vegetation cover and microhabitat where it was found. Captured individuals were taken to a controlled environment where they were photographed and sacrificed following the Colombian legislation for wildlife management (Law 84 of 1989-Chapter V; Decree 1076 of 2015). Each specimen was measured, all the taxonomically informative characters were described, and a tissue sample (liver or muscle) was collected and preserved in 96 % ethanol. All specimens were fixed in airtight chambers with a 10 % buffered formalin solution for two or three days until transferred to 75 % ethanol. The collected specimens are deposited at the Colección Biológica Universidad EAFIT (Medellín, Colombia).

### Species richness

To evaluate the effectiveness and completeness of sampling, we used rarefaction curves and species richness estimators (Colwell et al., 2004; Ficetola et al., 2013; Hernández-Ordóñez et al., 2015). Rarefaction curves based on species accumulation were generated from the number of individuals captured for each species using the Mao Tau estimator (Sest, Colwell et al., 2004, 2012). Also, we estimated the species richness at each PU—and





**Figura 2.** Cobertura vegetal asociada a la Unidades Productivas (PU) en el área de estudio. Huertos (A), Playa Rica (B), Pradera (C), Teresita (D).

**Figure 2.** Aerial photographs showing vegetation cover of the Productive Units (PU) in the study area. Huertos (A), Playa Rica (B), Pradera (C), Teresita (D).

in the overall community—by implementing non-parametric estimators based on abundance (Chao 1) and occurrence (Chao 2 and Jack 2; Colwell et al., 2004, 2012). The species richness estimators and their standard deviation were performed with a randomized sample of 100 replicates in EstimateS 9.1.0 (<http://viceroy.eeb.uconn.edu/EstimateS>; Colwell, 2013). Finally, to evaluate significant differences in the richness among sites, we used a non-parametric Kruskal-Wallis analysis of variance (ANOVA; Zar, 1996).

### Laboratory work

To generate barcodes, DNA was extracted using the GenElute™ Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit (Sigma-Aldrich) following the manufacturer's instructions. We PCR-amplified a fragment of the mitochondrial marker Cytochrome C Oxidase Subunit I (COI) in 25 µl reactions using the primers and thermocycling conditions described in Folmer et al. (1994) and Nagy et al. (2012) for amphibians and reptiles, respectively. All primers were synthesized with M13 tails to improve sequencing (Ivanova et al., 2007). The resulting amplicons were sequenced

using the M13 sequences on an ABI-3730xl automated sequencer (MCLAB, San Francisco, CA, USA). Chromatograms were edited and assembled in GENEIOUS® 9.1.8 (<http://www.geneious.com>), and low-quality sequences (e.g., chromatograms with double peaks or lack of open reading frame) were excluded from the analysis as they might represent pseudogenes (Song et al., 2008).

### DNA barcoding and species identification

We obtained the Barcode Index Number (BIN) for each COI sequence; this identifier assigns sequences to operational taxonomic units (OTU), which are expected to correspond closely to species (Ratnasingham & Hebert, 2013). Additionally, we used the animal identification tool of BOLD Systems (Batch ID), using the database of barcode records (queried in August 2021) at the species level with a similarity threshold of 98 % (Guarnizo et al., 2015). DNA barcoding assigns a taxonomic identification to each sequence according to the BIN's first record (specimen and associated sequence); however, because this first record is not free of misidentifications (Collins & Cruickshank, 2012),

to corroborate the BIN identification, we implemented an independent identification through morphological characters. For amphibians, we followed Cochran & Goin (1970), Lynch & Rueda-Almoeacid (1998, 1999), Savage (2002a), Savage (2002b), and Heyer (2005). For reptiles, we used the works of Peters & Orejas-M (1970), Ayala & Castro (1983), Perez-S & Moreno (1988), Harris (1994), Savage (2002a), Campbell & Lamar (2004), Romero-M et al. (2008), Velasco et al. (2010) and Moreno-A & Quintero-C (2015). The systematic arrangement for amphibians follows Frost (2023), for lizards we follow Uetz (2020), and for snakes Wallach et al. (2015).

### Phylogenetic Diversity

Phylogenetic diversity (PD) is a measure of diversity calculated by summing the lengths of all branches of a topology across a set of species (Faith, 1992; Pellens & Grandcolas, 2016). We performed phylogenetic analyses using COI sequences to calculate the PD for each biotic group (amphibians and reptiles separately) and to compare PD values between PUs. For these analyses, a single representative sequence was used for each species; however, because it was not possible to obtain amplifications for some reptile species, we used sequences available in BOLD Systems or GenBank repositories. To root the topologies, we used the species *Dendropsophus columbianus* for amphibians, whereas our representative species of the clade Lepidosauria were used for the reptiles. All COI sequences were aligned using default parameters in MUSCLE (Edgar, 2004) implemented in GENEIOUS 9.1.8. The DNA evolution model that best-fit our data was evaluated in jModelTest2 using the Bayesian Information Criterion (BIC; Darriba et al., 2012). Five independent Maximum Likelihood (ML) searches were performed, and nodal support was assessed by 1,000 pseudo-replicated bootstrap analyses (BS)

in GARLI 2.0 (Zwickl, 2006). Support values were annotated to the best-scoring ML tree using SUMTREES 3.3.1 (Sukumaran & Holder, 2010). With the resulting phylogenetic tree for each clade, we calculated the abundance-weighted PD of amphibian and reptile species for each PU in the R software (R Core Team, 2021) using the "Picante" package (Kembel et al., 2010).

## RESULTS

### Species composition and richness

A total of 228 individuals comprising seven amphibian species and 18 reptile species were recorded (Appendix 1). Across the four PUs, the number of species of amphibians per PU varied between four and six, while reptile richness per PU varied between seven and ten species. Even though Huertos (the largest PU with the most extensive forest cover) showed the greatest diversity of reptiles (10 species), there was no other apparent pattern in species richness associated with the area or forest cover across PUs for reptiles or amphibians (Table 1 and Appendix 1). All amphibians found (141 individuals) comprise the order Anura, specifically the families Bufonidae, Centrolenidae, Dendrobatidae, Hylidae, and Strabomantidae (Fig. 3, Table 1, and Appendix 1). The most diverse family was Strabomantidae, with three species (42.8 % of encountered amphibian diversity), while the other four amphibian families were represented by only one species each. Four of the seven anuran species were encountered in all four PUs, while two species were unique to a particular PU (Appendix 1 and 2).

For reptiles, all recorded species comprise the order Squamata, including eight species of lizards (suborder Lacertilia) and 10 species of snakes (suborder Serpentes; Fig. 4, Table 1, and

**Tabla 1.** Índices de diversidad para anfibios y reptiles por cada PU (Unidad Productiva) en el Departamento of Risaralda, municipalidades de Guática y Quinchía, Colombia.

**Table 1.** Diversity indices for amphibians and reptiles at each PU (Production Unit), in the Department of Risaralda, municipalities of Guática and Quinchía, Colombia.

Biotic group	Indices	Production Unit				
		Huertos	Pradera	Teresita	Playa Rica	Community
Amphibians	Phylogenetic Diversity	6.4	7.01	7.98	6.59	8.18
	Species Richness	4	5	6	5	7
	No. Individuals	39	37	26	39	141
Reptiles	Phylogenetic Diversity	7.46	4.86	4.94	5.24	9.59
	Species Richness	10	9	7	8	18
	No. Individuals	29	18	19	21	87



Appendix 1). The most species-rich reptile family was Dipsadidae (6 species, 33.3 % of the encountered reptile diversity), followed by Anolidae with 5 species (27.7 %), Gymnophthalmidae with two

species (11.1 %), while the families Anomalepididae, Colubridae, Elapidae, Gekkonidae, and Viperidae each included one species (5.55 % of encountered reptile diversity; Appendix 1). One



**Figura 3.** Especies de anfibios registrados en este estudio. (A) *Rhinella horribilis*, (B) *Centrolene savagei*, (C) *Leucostethus fraterdanieli*, (D) *Dendropsophus columbianus*, (E) *Pristimantis achatinus*, (F-L) diferentes morfotipos de *Pristimantis palmeri*.

**Figure 3.** Amphibian species recorded in this study. (A) *Rhinella horribilis*, (B) *Centrolene savagei*, (C) *Leucostethus fraterdanieli*, (D) *Dendropsophus columbianus*, (E) *Pristimantis achatinus*, (F-L) different morphotypes of *Pristimantis palmeri*.



**Figura 4.** Especies de reptiles registrados en este estudio. (A) juvenil de *Atractus lehmanni*, (B) adulto de *Atractus lehmanni*, (C) juvenil de *Clelia equatoriana*, (D) *Dipsas sanctijoannis*, (E) *Erythrolamprus epinephelus*, (F) *Erythrolamprus bizona*, (G) *Micrurus mipartitus*, (H) *Bothriechis schlegelii*, (I) *Riama columbiana*, (J) *Pholidobolus vertebralis*, (K) *Lepidoblepharis duolepis*, (L) *Anolis ventrimaculatus*, (M) *Anolis danieli*, (N) *Anolis eulaemus*, (O) *Anolis mariarum*.

**Figure 4.** Reptile species recorded in this study. (A) juvenile of *Atractus lehmanni*, (B) adult of *Atractus lehmanni*, (C) juvenile of *Clelia equatoriana*, (D) *Dipsas sanctijoannis*, (E) *Erythrolamprus epinephelus*, (F) *Erythrolamprus bizona*, (G) *Micrurus mipartitus*, (H) *Bothriechis schlegelii*, (I) *Riama columbiana*, (J) *Pholidobolus vertebralis*, (K) *Lepidoblepharis duolepis*, (L) *Anolis ventrimaculatus*, (M) *Anolis danieli*, (N) *Anolis eulaemus*, (O) *Anolis mariarum*.

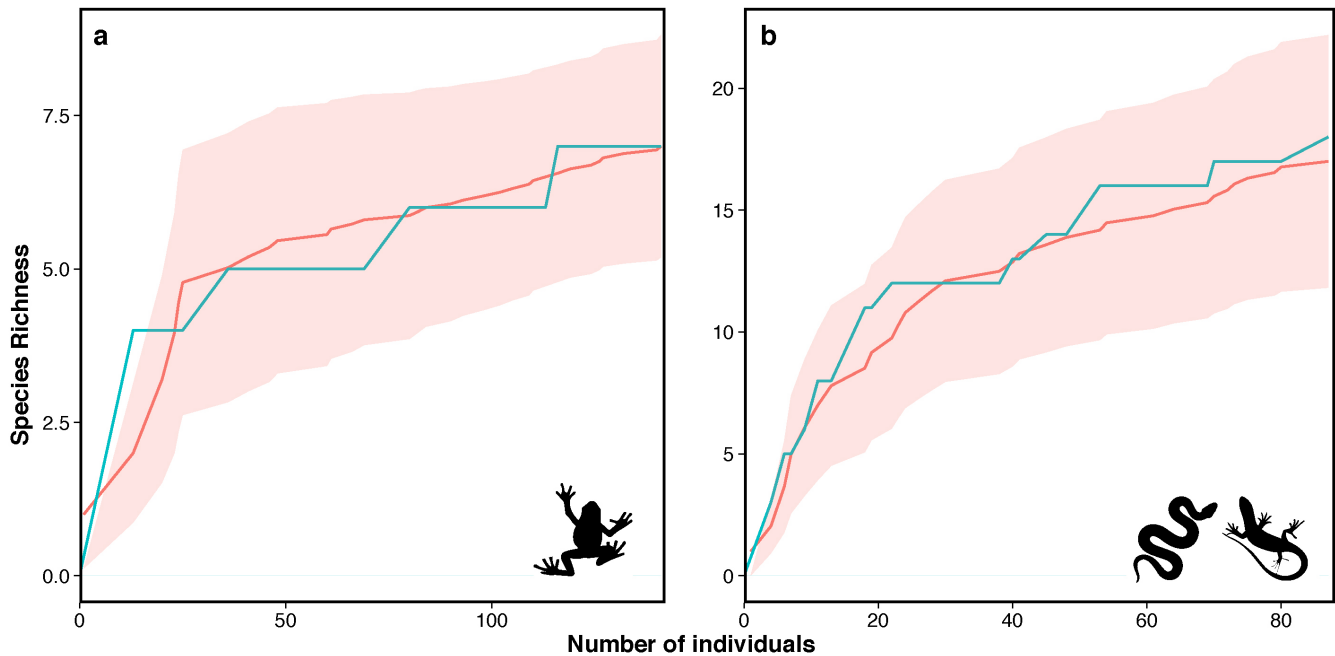
snake species (*Atractus lehmanni*) and two species of *Anolis* (*A. mariarum* and *A. ventrimaculatus*) were shared between the four PUs, whereas ten species were recorded from a single locality (Appendix 1 and 3). Despite some aforementioned differences in species composition, our analysis of variance indicates that these are not significant ( $X^2 = 1.255$ ;  $p = 0.685$ ), and as such, hereafter we focus on presenting and discussing our findings considering the four PUs as a single community.

The rarefaction curves for both groups did not evidence an asymptotic behavior (Fig. 5). This pattern of richness estimators reflects a greater expected number of species than encountered (Table 2). For amphibians, our sampling represents between 65–88 % of the expected diversity (up to four species estimated to have gone unsampled); similarly, for the reptiles, our work recorded between 63–76 % of the expected diversity, which means that at least 11 more species could be present in the area (Table 2). In terms of abundance, 80 % of the amphibian records (113 of 141) correspond to three species: *Pristimantis palmeri* was the most frequently recorded, followed by *P. achatinus*, and *Leucostethus fraterdanieli* (Appendix 1 and 2). For reptiles, the most abundant reptile species were *Anolis ventrimaculatus*, *A. mariarum*, and *Atractus lehmanni*, which represented 58.6 % of the

total number of records (51 of 87; Appendix 1 and 3); conversely, seven species of lizards and snakes were recorded as singletons, representing locally rare or less abundant species (Appendix 3).

### DNA barcoding

We obtained 49 *COI* sequences (between 571 and 711 bp) representing 20 of the 25 species (80 %) of amphibians and reptiles identified morphologically (Appendix 4). All the sequences and metadata were uploaded into the BOLD Systems and are accessible with the codes CARHE001-21–CARHE051-21 (Appendix 4). Noteworthy, 15 sequences (from nine species) represent the first record of this marker for Colombia, and 25 sequences (from 13 species) obtained a percentage of identity <98 %, which produced 13 new BINs (Appendix 4). We found 12 instances of inconsistency between our morphological and DNA-barcode identification methods; however, only two of these inconsistencies obtained an identity value >98 %, which corresponded to outdated taxonomies of the BOLD repository (Appendix 4). The other ten individuals with inconsistent identities showed identity values below 98 %. All 12 cases where a lack of consensus was found between identification methods are discussed below.



**Figura 5.** Curva de rarefacción para especies de anfibios (A) y reptiles (B). Línea roja: riqueza de especies esperada (Sest); línea azul: riqueza de especies observada (Sobs); área sombreada: 95 % intervalo de confianza de la riqueza esperada de especies.

**Figure 5.** Species rarefaction curves for amphibians (A) and reptiles (B). Red line: expected species richness (Sest); blue line: observed species richness (Sobs); shaded area: 95 % confidence interval of expected species richness.



**Tabla 2.** Índices de riqueza no paramétricos ponderados por la abundancia de anfibios y reptiles.**Table 2.** Non-parametric richness indices weighted by abundance for amphibians and reptiles.

Biotic group	Diversity indices				
	$S_{(obs)}$	$S_{(est)}$	Chao-1	Chao-2	Jack-2
Amphibians	7	7	7.99	7.97	10.81
Reptiles	18	17	27.37	23.77	28.51

### Phylogenetic diversity

Our final matrices for phylogenetic reconstructions included sequences from seven amphibian species (100 % completeness) and 15 reptile species (83.3 % completeness). We were unable to sequence the species *Anolis mariarum*, *Anolis* sp., and *Riama columbiana* (Appendix 5). For amphibians, the phylogenetic diversity of the four PUs (in decreasing order) was as follows: Teresita (PD=7.98), Pradera (PD=7.01), Playa Rica (PD=6.59), and Huertos (PD=6.40; Table 1); while for the reptiles, Huertos obtained the highest phylogenetic diversity (PD=7.46), followed by Playa Rica (PD=5.24), Teresita (PD=4.94), and Pradera (PD=4.86; Table 1).

## DISCUSSION

### Species composition and richness

The diversity of amphibians and reptiles in the Andean region, specifically the coffee axis in the departments of Antioquia, Caldas, and Quindío, is well-known (Paéz et al., 2002; Palacio-Baena et al., 2006; Rojas-Morales et al., 2011, 2014; Vargas-Salinas & Aponte-Gutiérrez, 2016; Román-Palacios et al., 2017; Duarte-Marín et al., 2018); however, no relevant efforts have characterized the herpetological diversity in the department of Risaralda. For example, a data query at the SiB Colombia (<https://www.gbif.org/>) recovered only one record of amphibians and one record of reptiles for the municipality of Quinchía (*Pristimantis achatinus* and *Oxyrhopus petolaris*), and no records from Guática. In contrast, one study from the coffee axis documented the presence of 36 species of amphibians and 38 species of reptiles in an area within the department of Caldas between 700–5,300 m a.s.l., which is in close proximity to our study area (Rojas-Morales et al., 2014). Although the latter study recorded greater species richness than ours, their elevational range was also greater; nonetheless, it failed to document some species that our study found, such as the blind snake *Trilepida macrolepis*, the lizards *Anolis danieli* and *A. mariarum*, or the ground snake *Atractus lehmanni*. Conversely, Rojas-Morales et al.

(2014) recorded "common" species of open areas, such as *Chironius monticola*, *Lampropeltis triangulum*, and *Mastigodryas boddaerti*, which were not recorded in our study. Extracting the reported species from Rojas-Morales et al. (2014) from a similar elevational gradient (1,900–2,300 m a.s.l.) as evaluated in our study, we observe that our study recorded only 38.8 % of the amphibian diversity (7 of 18 species) and 75 % of the reptile diversity (18 of 25 species); however, these differences in species richness may be explained by the differential scopes of study, as Rojas-Morales et al. (2014) was primarily based on a literature review of an area with extensive native forests (~150,000 ha), whereas our study involved fieldwork in an area mainly composed of avocado crops with only 355 ha of fragmented native forest.

Although our study is one of the few that contributes to the knowledge of the herpetological diversity in Risaralda, the true species richness of our study area is clearly underrepresented (Fig. 5, Table 2). It has been shown that the number of singletons and doubletons influences (positively) the magnitude of the richness estimates from Chao1 and Jack2 (Gotelli & Colwell, 2011). Not surprisingly, these two estimates showed the highest species richness considering that our sampling included 11 instances of singletons and doubletons (Appendix 1). These results support the need for additional sampling efforts that can overcome all factors affecting the detectability of species, such as climatic seasonality, rainfall regime, pathogens and parasites, demographic dynamics, habitat conservation status, and forest cover representativeness (only 26.5 % in our study site) (Kéry & Schmid, 2004).

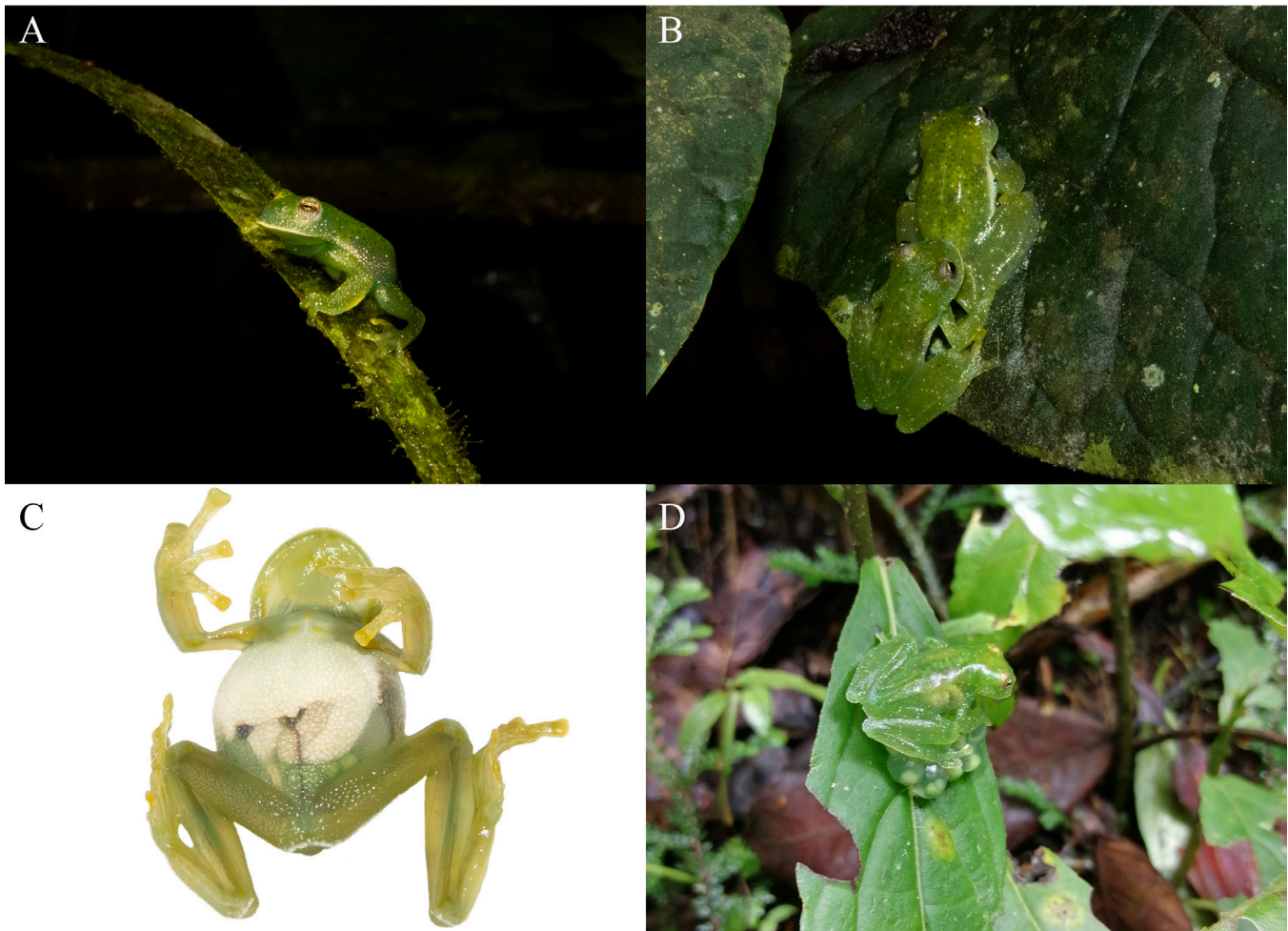
Our analyses did not find the differences in species composition among the four PUs to be significant, even though only five species (20 %) were found to be common between the four areas, while six species (24 %) were exclusively found in a particular PU. These latter species are not characterized as rare or not abundant (Appendix 1); on the contrary, they are commonly found in Andean forests (Rojas-Morales et al., 2014), except for the blind snake *Trilepida macrolepis*, which is very inconspicuous

due to its fossorial habits (Savage, 2002a). The lack of significant differences between PUs could be explained by their proximity and the similarity of their abiotic conditions (see study area, Fig. 2), and based on the absence of an asymptotic behavior in the species rarefaction curves, future sampling might prove the presence of higher (shared) diversity across sampling sites.

### DNA barcoding

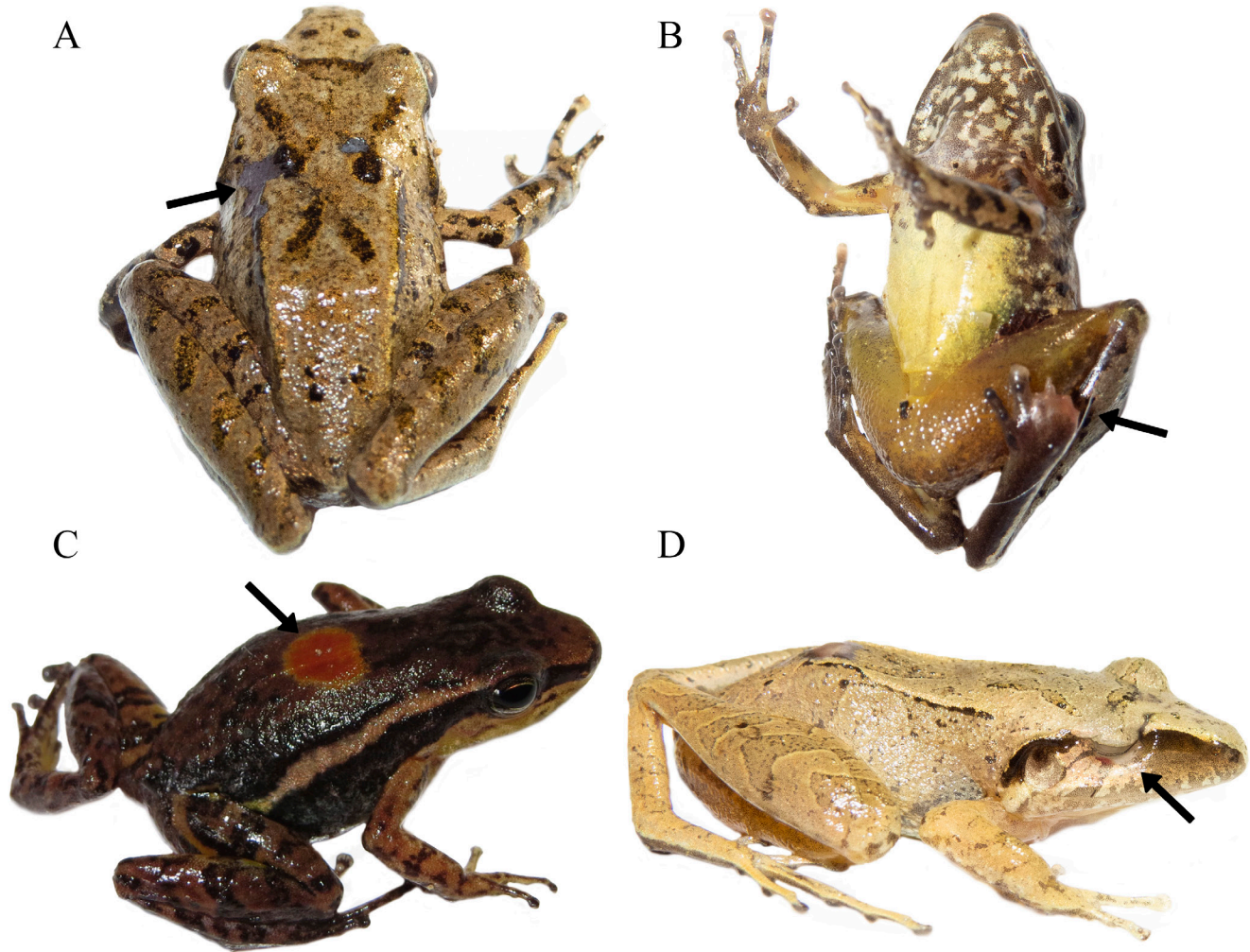
Field identifications showed a strong correspondence (96.9 %) with the identifications provided by the DNA barcodes; however, 12 instances of inconsistency between the two methods were recovered (Appendix 4). Within these cases, two species exhibited >99 % similarity between our sequences and the BOLD-based identification, and we attribute this difference to outdated

taxonomy in the BOLD portal rather than real incongruences between identification methods. In the first case, our morphological identification of *Rhinella horribilis* was assigned under BIN BOLD:AAB1186 to the name *R. marina*; however, using multiples lines of evidence, Acevedo et al. (2016) removed *R. horribilis* from the synonymy of *R. marina*, and allocated the cis-Andean populations to the nominal form *R. horribilis*, while the trans-Andean populations were assigned to the nominal form *R. marina*. Consequently, our population (and its morphological characters) corresponds to *R. horribilis*. Second, sequences from the morphologically identified *Leucostethus fraterdanieli* were assigned to *Colostethus fraterdanieli* using DNA barcoding (BIN BOLD:AAE9581); however, Marin et al. (2018) through morphology and genetic evidence transferred the *C. fraterdanieli*



**Figura 6.** (A) Macho de *Centralene savagei* posado sobre una hoja a 1,62 m sobre el nivel del suelo durante la actividad de canto; (B) pareja amplectante de *C. savagei*; (C) vista ventral de una hembra fértil de *C. savagei*; (D) cuidado parental de un macho de *C. savagei* sobre una nidada de huevos, que muestra el sustrato de oviposición y el color verde de la yema.

**Figure 6.** (A) *Centralene savagei* male perching on a leaf at 1.62m above ground level during song activity; (B) amplectant *C. savagei* pair; (C) ventral view of fertile *C. savagei* female; (D) parental care of a male *C. savagei* over a clutch of eggs, showing oviposition substrate and green yolk color.



**Figura 7.** Individuos con malformaciones registradas en el área de estudio. (A) Desprendimiento de tejido cutáneo en *Pristimantis achatinus*; (B) pie izquierdo en vista plantar de *P. achatinus* con ausencia parcial de los dígitos I-II (braquidactilia) y ausencia total de los dígitos III-IV-V (ectrodactilia); (C) manchas de coloración inusual en el dorso de *Leucostethus fraterdanieli*; (D) anoftalmia en *P. achatinus*.

**Figure 7.** Individuals with malformations recorded in the study area. (A) Detachment of skin tissue in *Pristimantis achatinus*; (B) left foot in plantar view of *P. achatinus* with partial absence of digits I-II (brachydactyly), and total absence of digits III-IV-V (ectrodactyly); (C) unusual coloration spots on the dorsum of *Leucostethus fraterdanieli*; (D) anophthalmia in *P. achatinus*.

complex to the genus *Leucostethus*. Additionally, these authors demonstrate that the *Leucostethus* genus is not restricted to the Cis-Andean region of the western Amazon in Ecuador and Peru (Grant et al., 2017) but also occurs in the Andes of Colombia. Consequently, we follow Marin et al. (2018) as an up-to-date reference for the genus-level allocation of this species.

On the other hand, 10 of the mentioned inconsistencies were below the 98 % identity threshold suggested by BOLD (Appendix 4). In these instances, we retain our morphological identification according to the following considerations: 1) The

morphologically identified *Centrolene savagei* was identified as *Cochranella savagei* under the BIN BOLD:ACK9980; however, we follow the taxonomical proposal for the family Centrolenidae of Guayasamín et al. (2009). 2) We captured a juvenile individual morphologically identified as *Pristimantis* sp., but the same individual was assigned to the name *Pristimantis* aff. *taeniatus* under BIN BOLD:AAV6492; however, due to the low percentage of identity (91.67 %) and the difficulty of observing diagnostic characters in the juvenile specimen, we opted to keep our taxonomic identification at the broader genus level. 3) The material identified morphologically as *Trilepida macrolepis* had



a very low identity (85 %) with the name assigned by the DNA barcode, *Rena humilis* (BIN BOLD:ADC8672); however, we retain our morphological identification due to the shared presence of the following characteristics in *T. macrolepis* description and our own material: supraocular scale present, rostral scale similar in size to supranasals, three supralabial scales, four infralabial scales, ventral scale row along the central axis of the tail, seven dorsal scale rows with dark brown and seven ventral scales with light brown (Pinto & Fernandes, 2017). Additionally, *R. humilis* is endemic to North America (Uetz, 2020). 4) The lizard *Anolis danieli* was assigned under the BIN BOLD:ACH6055 with an identity percentage of 93.81%; however, this BIN does not have an assigned taxonomic identity. 5) Our material morphologically identified as *Anolis eulaemus* had an identity close to 89 % with *Anolis anoriensis* (BIN BOLD:ADM5331); in addition to the endemic distribution of *A. anoriensis* to the department of Antioquia (Velasco et al., 2010), both species can be easily distinguished by the color of their dewlap, with *A. eulaemus* having a brown dewlap (the same color as in our material), while *A. anoriensis* shows a green-colored dewlap (Velasco et al., 2010). 6) Our record of *Anolis* sp. is based on a juvenile specimen (EAFIT-R 0337), for which we were unable to observe reliable diagnostic characters. Although this individual was assigned to the taxon *A. calimae* according to the BIN BOLD:ACH5307, such identification is based on a very low identity (89.12 %). Therefore, given the lack of compelling morphological evidence, we decided to provide an identification only to the genus level. 7) Our morphology-based identification of *Atractus lehmanni* contrasts with the DNA barcoding identification of this taxon as *A. lasallei* (BOLD:ACLO112). Although the molecular identity is not low (97.6 %), we retain the morphological identification since our material exhibit the diagnostic characters of the original description: dorsal scale rows 17/17/17, tree temporals, two postocular, six infralabials (vs. 4 to 5 in *A. lasallei*), incomplete white nuchal collar (vs. absence of nuchal collar in *A. lasallei*), and black belly with square reddish-white spots (vs. yellow or cream belly with numerous black spots in the middle in *A. lasallei*) (Amaral, 1931; Boettger, 1898). However, we are aware that the taxonomy of the *Atractus* genus is problematic (Arteaga et al., 2017), and our identification could change with time. 8) The species *Dipsas sanctiioannis* was assigned under the BIN BOLD:ACJ9742 to the name *Dipsas* sp. In the absence of any contradictory results, we rely on our morphological identification based on the presence of a loreal scale, 1 to 3 preoculars, two postoculars, nine supralabials, 15 rows of dorsal scales in the middle, 70 to 98 divided subcaudals, and brown back with clear transverse bands, which have black or darker colored edges (Boulenger, 1911; Harvey, 2008). 9) *Erythrolamprus bizona* was assigned to the name *Lampropeltis triangulum* according to

its BIN (BOLD:ACI6138); however, *Erythrolamprus* differs from *Lampropeltis* by some characters such as one preocular (vs. seven in *L. triangulum*), temporals 1+2 or 1+1+2 (vs. 1 + 2 or 2 + 3 in *L. triangulum*), presence of two black nuchal rings (vs. one nuchal ring in *Lampropeltis* species), and additionally *L. triangulum* is distributed exclusively in North America (Savage, 2002a; William, 1994). The high identity recovered by BOLD (96.77 %) suggests a likely misidentification of the original sequence in the portal. 10) Finally, the lizard *Lepidoblepharis duolepis* was identified as *Lepidoblepharis xanthostigma* according to the BIN BOLD:ACI5205; nonetheless, in Colombia, the latter species is distributed mainly in the lowlands of the Magdalena River Valley (as opposed to the higher-elevation populations of *L. duolepis*); furthermore, our specimens did not exhibit dark spots in the dewlap region and a pale “W” shaped band on the posterodorsal region of the head that are characteristic in *L. xanthostigma*, but are absent in *L. duolepis* (Ayala & Castro, 1983).

### Phylogenetic diversity

In amphibians, a positive relationship was found between species richness (SR) and PD across PUs (Table 1). This finding is expected given the increased number of branches within the phylogeny as new species are added. In the event of two localities with equal SR, the higher PD is related to the branch lengths of the species included: the more distantly related the taxa are, the higher their branch lengths, and consequently the PD, will be. We observed one such instance of localities with the same SR: while Pradera showed a higher PD with species from four different families, Playa Rica exhibited a lower PD with species from only two families (Appendix 1). Conversely, in reptiles, no positive relationship was found between SR and PD (Table 1). This is most likely due to our taxon sampling lacking sequences from three species (*Anolis mariarum*, *Anolis* sp., and *Riama columbiana*), which impacts the branch lengths of the phylogeny (Appendix 5).

Given its straightforward implementation and understanding, SR is the most common measure to study biodiversity; however, the inclusion of PD metrics in biodiversity studies (e.g., inventories or monitoring) allows for a better understanding of species assemblages, as it considers not only the richness but also the evolutionary history of species (Cadotte et al., 2011; Belmaker & Jetz, 2013). Although the inclusion of PD in these types of studies is not new (Fenker et al., 2011; Gumbs et al., 2020; Paz et al., 2021), in Colombia is uncommon and has been restricted to a few examples in mammals (González-Caro et al., 2014; González-Maya et al., 2016); it is therefore necessary to expand this metric's implementation to inventories and monitoring projects of the country's herpetological diversity. We hope that our work can be taken as a proposal to include



this metric in future biotic inventories so that it can be used for comparative purposes in upcoming studies.

### Conservation concerns: endemic and threatened species

Of the 25 species of amphibians and reptiles recorded, none are micro-endemic to the study area. However, *Centrolene savagei*, *Dendropsophus columbianus*, *Leucostethus fraterdanieli*, *Pristimantis palmeri*, and the reptiles *Anolis danieli*, *A. mariarum*, *Dipsas sanctiyoannis*, *Lepidoblepharis duolepis*, and *Riama columbiana* are endemic to Colombia, specifically to highland Andean forests (Appendix 1; Frost, 2023). Among these, *Centrolene savagei* is the most sensitive in terms of its habitat requirements; this glass frog is distributed in the coffee axis in disturbed and undisturbed forests between 1,440–2,410 m a.s.l., it shows a preference for humid microhabitats, especially streams or lentic environments, and its presence has been considered a bioindicator of habitats with good quality (Vargas-Salinas et al., 2014). In the present study, we found 11 individuals of this species in all PUs and recorded four reproductive behaviors: vocalizations in males, one instance of amplexus, fertile females with eggs, and parental care behavior (Fig. 6). All these behaviors have been recently reported by Ospina-L et al. (2020), Navarro-Salcedo et al. (2021) and Vargas-Salinas et al. (2014, 2017).

None of recorded species are included in any of the appendices of the Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES) or under any category of threat at the national level (Cruz-Rodríguez et al., 2017), but several species are found in the Red List of Threatened Species from the International Union for Conservation of Nature (IUCN) based on international evaluations (Appendix 1). Specifically, 19 species are categorized as "Least Concern" (IUCN, 2021), *Atractus lehmanni* as "Data Deficient" (IUCN, 2021), and *Riama columbiana* as an "Endangered" endemic species (IUCN, 2021). This latter lizard has a small area of distribution (1214 km<sup>2</sup>) and is restricted to the Andean Forest habitat in a narrow altitudinal strip that shows extensive fragmentation generated by both human and natural activities (Guhl, 2004; Frost, 2023).

Worldwide, much of the amphibian diversity is experiencing population declines associated with habitat degradation, emerging diseases and pathogens, invasive species, climate change, and pollutants (Luedtke et al., 2023). In particular, pesticides are a type of environmental contaminant that can cause significant mortalities, as various categories of amphibian body malformations have been documented and associated with the proximity of populations to agricultural systems (Davidson et al., 2002; Ankley et al., 2004; Lannoo, 2008; Lajmanovich et al., 2012). Although little information is known regarding these

malformations in South American populations and their specific causes, there are some findings on the tolerance of embryos and tadpoles to different pH levels (Henaó-García et al., 2011), the impact of agrochemicals on amphibian populations (Lajmanovich et al., 2012), and the possible consequences of using herbicides such as glyphosate in anurans (Ramírez-Jaramillo, 2019). In the present study, we recorded multiple instances of individuals exhibiting detachment of skin tissue (Fig. 7A), brachydactyly (metatarsal bones present but the number of phalanges reduced), ectrodactyly (total absence of some digits including the metatarsal bone; Fig. 7B), unusual coloration spots (Fig. 7C), and anophthalmia (absence of eyes; Fig. 7D; Cortés-Suárez, 2018).

It is noteworthy to highlight that the individuals with these malformations were collected in the avocado (*Persea americana*) matrix and the ecotone between crop and forest edge, both areas with greater exposure to pesticides and other chemical substances compared to the forest interior. Although there is prevailing evidence on the effects of pesticides on amphibian populations (see above), our findings were accidental, and we did not test to confirm the causal relationship between these malformations and the pesticides used in the agricultural system where the fieldwork took place. Amphibians play an essential role in the trophic guild of aquatic and terrestrial habitats (being both consumers and prey), and their abundance in the tropics is relatively high, so the effects of amphibian losses are likely to extend to other taxa, such as reptiles and mammals (Zipkin et al., 2020). It is therefore essential to increase biological inventories conducted in agroecological systems, as this will provide a better understanding of the impact of modified landscapes on their herpetological communities.

## CONCLUSIONS

The diversity of amphibians and reptiles in the department of Risaralda, Colombia, shows a deficit of knowledge compared to other nearby departments in the coffee-growing region. Using a combination of morphology and DNA barcoding, the present study reports seven species of amphibians (4 endemic to Colombia) and 18 species of reptiles (five endemic) from four agroecosystems in Risaralda, although the observed richness was almost certainly underestimated considering the non-asymptotic nature of the rarefaction curve. Our results support the need for greater sampling efforts to recognize the region's true biodiversity, as this will allow a better understanding of the complex dynamics that can be observed in modified landscapes. The presence of several individuals of the glass frog *Centrolene savagei* might be considered a sign of excellent habitat quality,

but on the contrary, we also found multiple individuals of amphibians with signs of body malformations that could be associated with the use of pesticides. These contradictory results demonstrate that we still need to understand the extent to which forest remnants associated with agroecosystems are important for the long-term viability of threatened species and the impacts that agricultural practices impose on those species.

Our study generated 49 total sequences, 15 of which represent the first DNA barcode for nine species in Colombia (three endemics), reinforcing the importance of not only implementing DNA barcoding studies at large geographical scales, but also in inventories at local scales such as this one (Bergsten et al., 2012). In addition, we show that the *COI* sequences generated for barcoding studies can also be used for downstream analyses like evaluating the PD of communities. The PD is a crucial component when maximizing biodiversity conservation efforts, as it can provide a better understanding of the long-term viability and response capacity of an ecosystem and the unique and irreplaceable evolutionary processes of each community.

**Acknowledgments.-** We thank avocado producers of CARTAMA S.A.S for their hospitality during fieldwork. We are grateful to Daniel Abreu-Acosta (Universidad EAFIT) for his support during fieldwork, to Juan C. Arredondo-Salgar (Universidad CES) for helping with the identification of challenging taxa, to Esteban Garzón-Franco (Universidad CES) for his assistance in the photographic plates, and to Camilo Sánchez-Giraldo for his advice on statistical analyses. Universidad EAFIT supported this project with field equipment and laboratories. This project was funded by Avofruit S.A.S. through project 80069 of Minciencias under the category "Tax Benefits" (call for proposal 869-2019). Captured individuals were sacrificed following the Colombian legislation for wildlife management (Law 84 of 1989-Chapter V; Decree 1076 of 2015). The specimens were collected under a permit issued to Universidad EAFIT by Resolution 1160 dated June 07, 2023.

## CITED LITERATURE

- Acevedo, A.A., M. Lampo & R. Cipriani. 2016. The cane or marine toad, *Rhinella marina* (Anura, Bufonidae): two genetically and morphologically distinct species. *Zootaxa* 4103:574-586.
- Acosta-Galvis, A.R. 2000. Ranas, salamandras y caecilias (Tetrapoda: Amphibia) de Colombia. *Biota Colombiana* 1:289-319.
- Aguirre-León, G. 2011. Métodos de estimación, captura y contención de anfibios y reptiles. Pp 61-85. In S. Gallina & C. López-González (Eds.), *Manual de Técnicas del estudio de la Fauna*. Instituto Literario de Veracruz, Xalapa, Veracruz, México.
- Ankley, G.T., S.J. Degitz, S.A. Diamond & J.E. Tietge. 2004. Assessment of environmental stressors potentially responsible for malformations in North American anuran amphibians. *Ecotoxicology and environmental safety* 58:7-16.
- Amaral, A. 1931. Studies of neotropical ophidia XXIII. Additional notes on Colombian snakes XXVI. Ophidia of Colombia. *Bulletin of the Antivenin Institute of America* 4:85-94.
- Arteaga, A, K. Mebert, J.H. Valencia, D.F. Cisneros-Heredia, N. Peñafiel, C. Reyes-Puig, J.L. Vieira-Fernandes & J.M. Guayasamin. 2017. Molecular phylogeny of *Atractus* (Serpentes, Dipsadidae), with emphasis on Ecuadorian species and the description of three new taxa. *ZooKeys* 661:91-123.
- Ayala, S. & F. Castro. 1983. Dos nuevos gecos (Sauria: Gekkonidae, Sphaerodactylinae) para Colombia: *Lepidoblepharis xanthostigma* (Noble) y descripción de una nueva especie. *Caldasia* 13:743-753.
- Bergsten, J., D.T. Bilton, T. Fujisawa, M. Elliott, M.T. Monaghan, M. Balke, L. Hendrich, J. Geijer, J. Hermann, A.P. Vogler, et al. 2012. The effect of geographical scale of sampling on DNA barcoding. *Systematic Biology* 61:851-869.
- Belmaker, J. & W. Jetz. 2013. Spatial scaling of functional structure in bird and mammal assemblages. *The American Naturalist* 181:464-478.
- Bernal, M.H. & J.D. Lynch. 2008. Review and analysis of altitudinal distribution of the Andean anurans in Colombia. *Zootaxa* 1826:1-25.
- Boettger, O. 1898. Katalog der Reptilien-Sammlung im Museum der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft in Frankfurt Am Main II. Teil (Schlangen). Gebrüder Knauer, Frankfurt am Main, Germany.
- Boulenger, G.A. 1911. Descriptions of new reptiles from the Andes of South America, preserved in the British Museum. *Annals and Magazine of Natural History* 37:19-25.
- Brower, J.E., J.H. Zar & C.Von Ende. 1998. Field and laboratory methods for general ecology. WCB McGraw-Hill: Boston, MA, USA.



- Cadotte, M.W., K. Carscadden & N. Mirotchnick. 2011. Beyond species: Functional diversity and the maintenance of ecological processes and services. *Journal of applied ecology* 48:1079-1087.
- Campbell, J.A. & W.W. Lamar. 2004. *The Venomous Reptiles of the Western Hemisphere*. Cornell University Press. Ithaca, New York, USA.
- Cavender-Bares, J. & A. Wilczek. 2003. Integrating micro- and macroevolutionary processes in community ecology. *Ecology* 84:592-597.
- Cochran, D.M. & C.J. Goin. 1970. Frogs of Colombia. *National Museum Bulletin* 288:1-655.
- Collins, R.A., L.M. Boykin, R.H. Cruickshank & K.F. Armstrong. 2012. Barcoding's next top model: An evaluation of nucleotide substitution models for specimen identification. *Methods in Ecology and Evolution* 3:457-465.
- Collins, R.A. & R.H. Cruickshank. 2012. The seven deadly sins of DNA barcoding. *Molecular Ecology Resources* 13:969-975.
- Colwell, R.K. 2013. EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 9 and earlier. User's Guide and application. <http://purl.oclc.org/estimates> [Consulted in April 2022].
- Colwell, R.K., A. Chao, N.J. Gotelli, S.Y. Lin, C.X. Mao, R.L. Chazdon & J.T. Longino. 2012. Models and estimators linking individual-based and sample-based rarefaction, extrapolation, and comparison of assemblages. *Journal of Plant Ecology* 5:3-21.
- Colwell, R.K., C.X. Mao & J. Chang. 2004. Interpolating, extrapolating, and comparing incidence-based species accumulation curves. *Ecology* 85:2717-2727.
- Cope, E.D. 1860. Catalogue of the Colubridae in the Museum of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia. I. Calamariinae. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 1860:74-79.
- Corn, P.S. & R.B. Bury. 1990. *Sampling methods for terrestrial amphibians and reptiles* (Vol. 256). US Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station, Portland, Oregon, USA.
- Cortés-Suárez, J.E.C. 2018. Anoftalmia en *Dendropsophus luddeckei* (Anura: Hylidae) en un agroecosistema pastoril de Villa de Leyva, Colombia. *Revista Latinoamericana de Herpetología* 1:53-54.
- Crump, M.L. & N.J. Scott. 1994. Visual encounter surveys. Pp. 84-92. In: *Measuring and monitoring biological diversity, Standard methods for amphibians*. Editors, Heyer WR., Donnelly MA, McDiarmid RW, Hayek LAC, Foster MS. Smithsonian Institution Press, Washington, USA.
- Cruz-Rodríguez, C.A., J. Pérez-Torres & J.F. González-Maya. 2017. Resolución nacional de especies amenazadas de Colombia. *Mammalogy Notes* 4:1-5.
- Darriba, D., G.L. Taboada, R. Doallo & D. Posada. 2012. jModelTest 2: More models, new heuristics and parallel computing. *Nature methods* 9:772-772.
- Davidson, C., H.B. Shaffer & M.R. Jennings. 2002. Spatial tests of the pesticide drift, habitat destruction, UV-B, and climate-change hypotheses for California amphibian declines. *Conservation Biology* 16:1588-1601.
- Duarte-Marín, S., C. González-Acosta & F. Vargas-Salinas. 2018. Estructura y composición de ensamblajes de anfibios en tres tipos de hábitat en el Parque Nacional Natural Selva de Florencia, Cordillera Central de Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 42:227-236.
- Edgar, R.C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic acids research* 32:1792-1797.
- Faith, D.P. 1992. Conservation evaluation and phylogenetic diversity. *Biological conservation* 61:1-10.
- Faith, D.P., P.R. Minchin & L. Belbin. 1987. Compositional dissimilarity as a robust measure of ecological distance. *Vegetatio* 69:57-68.
- Fenker, J., L.G. Tedeschi, R.A. Pyron & C.D.C. Nogueira. 2014. Phylogenetic diversity, habitat loss and conservation in South American pitvipers (Crotalinae: *Bothrops* and *Bothrocophias*). *Diversity and Distributions* 20:1108-1119.
- Ficetola, G.F., A. Bonardi, R. Sindaco & E. Padoa-Schioppa. 2013. Estimating patterns of reptile biodiversity in remote regions. *Journal of Biogeography* 40:1202-1211.
- Fick, S.E. & R.J. Hijmans. 2017. WorldClim 2: New 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 37:4302-4315.



- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz & R. Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial Cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3:294-299.
- Forest, F., R. Grenyer, M. Rouget, T.J. Davies, R.M. Cowling, D.P. Faith, A. Balmford, J.C. Manning, Ş. Procheş, M. van der Bank et al. 2007. Preserving the evolutionary potential of floras in biodiversity hotspots. *Nature* 445:757-760.
- Frost, D.R. 2023. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.1. Electronic Database accessible at <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA. [Consulted in July 2023].
- Gaytán, Á., J. Bergsten, T. Canelo, C. Pérez-Izquierdo, M. Santoro & R. Bonal. 2020. DNA Barcoding and geographical scale effect: The problems of undersampling genetic diversity hotspots. *Ecology and evolution* 10:10754-10772.
- Gotelli, N.J. & R.K. Colwell. 2011. Estimating Species Richness. Pp. 39-54. In: A. Magurran & B. McGill (Eds.), *Biological Diversity: Frontiers in Measurement and Assessment*. Oxford University Press, New York, New York, USA.
- González-Caro, S., M.N. Umaña, E. Álvarez, P.R. Stevenson & N.G. Swenson. 2014. Phylogenetic alpha and beta diversity in tropical tree assemblages along regional-scale environmental gradients in northwest South America. *Journal of Plant Ecology* 7:145-153.
- González-Maya, J., A. Arias-Alzate, R. Granados-Peña, N. Mancera-Rodríguez & G. Ceballos. 2016. Environmental determinants and spatial mismatch of mammal diversity measures in Colombia. *Animal Biodiversity and Conservation* 39:77-87.
- Grant, T., M. Rada, M. Anganoy-Criollo, A. Batista, P.H. Dias, A.M. Jeckel, D.J. Machado & J.V. Rueda-Almonacid. 2017. Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives revisited (Anura: Dendrobatoidea). *South American Journal of Herpetology* 12, 1-90.
- Guarnizo, C.E., A. Paz, A. Munoz-Ortiz, S.V. Flechas, J. Mendez-Narvaez & A.J. Crawford. 2015. DNA barcoding survey of anurans across the Eastern Cordillera of Colombia and the impact of the Andes on cryptic diversity. *PLoS ONE* 10:e0127312.
- Guayasamin, J.M., S. Castroviejo-Fisher, L. Trueb, J. Ayarzagüena, M. Rada & C. Vila. 2009. Phylogenetic systematics of Glassfrogs (Amphibia: Centrolenidae) and their sister taxon *Allophryne ruthveni*. *Zootaxa* 2100:97.
- Guayasamin, J.M., D.F. Cisneros-Heredia, R.W. McDiarmid, P. Peña & C.R. Hutter. 2020. Glassfrogs of Ecuador: diversity, evolution, and conservation. *Diversity* 12:222.
- Guhl, A. 2004. Café y cambio de paisaje en la zona cafetera colombiana entre 1970 y 1997. *Cenicafé* 5:29-44.
- Gumbs, R., C.L. Gray, M. Böhm, M. Hoffmann, R. Grenyer, W. Jetz...& J. Rosindell. 2020. Global priorities for conservation of reptilian phylogenetic diversity in the face of human impacts. *Nature Communications* 11:2616.
- Harris, D.M. 1994. Review of the teiid lizard genus *Ptychoglossus*. *Herpetological Monographs* 8:226-275.
- Harvey, M.B. 2008. New and Poorly Known *Dipsas* (Serpentes: Colubridae) from Northern South America. *Herpetologica* 64:422-451
- Hebert, P.D.N., A. Cywinska, S.L. Ball & J.R. deWaard. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 270:313-321.
- Heltshe, J.F. & N.E. Forrester. 1983. Estimating Species Richness Using the Jackknife Procedure. *Biometrics* 39:1-11.
- Henaó Muñoz, L.M. & M.H. Bernal Bautista. 2011. Tolerancia al pH en embriones y renacuajos de cuatro especies de anuros colombianos. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 35:105-110.
- Hernández-Ordóñez, O., N. Urbina-Cardona & M. Martínez-Ramos M. 2015. Recovery of amphibian and reptile assemblages during old-field succession of tropical rain forests. *Biotropica* 47:377-388.
- Heyer, W.R. 2005. Variation and taxonomic clarification of the large species of the *Leptodactylus pentadactylus* species group (Amphibia: Leptodactylidae) from Middle America, northern South America, and Amazonia. *Arquivos de Zoologia* 37:269-348.
- Hortal, J., F. de Bello, J.A.F. Diniz-Filho, T.M. Lewinsohn, J.M. Lobo & R.J. Ladle. 2015. Seven shortfalls that beset large-scale knowledge of biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 4:523-549.



- Ivanova, N.V., T.S. Zemlak, R.H. Hanner & P.D. Hebert. 2007. Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. *Molecular Ecology Notes* 7:544-548.
- IUCN. 2020. The IUCN Red List of Threatened Species. IUCN Red List of Threatened Species. Available: <http://www.iucnredlist.org> [Consulted in 13 April 2022].
- Kearse, M., R. Moir, A. Wilson, S. Stones-Havas, M. Cheung, S. Sturrock, S. Buxton, A. Cooper, S. Markowitz, C. Duran, et al. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28:1647-1649.
- Kembel, S.W., P.D. Cowan, M.R. Helmus, W.K. Cornwell, H. Morlon, D.D. Ackerly, S.P. Blomberg & C.O. Webb. 2010. Picante: R tools for integrating phylogenies and ecology. *Bioinformatics* 26:1463-1464.
- Kéry, M. & H. Schmid. 2004. Monitoring programs need to take into account imperfect species detectability. *Basic and Applied Ecology* 5:65-73.
- Lajmanovich, R.C., P.M. Peltzer, A.M. Attademo, M.C. Cabagna-Zenklusen & C.M. Junges. 2012. Los agroquímicos y su impacto en los anfibios: un dilema de difícil solución. *Química Viva* 11:184-198.
- Lannoo, M.J. 2008. Malformed frogs: the collapse of aquatic ecosystems. University of California Press. Berkeley, California, USA.
- Luedtke, J. A., J. Chanson, K. Neam, L. Hobin, A.O. Maciel, A. Catenazzi... & S.N. Stuart. 2023. Ongoing declines for the world's amphibians in the face of emerging threats. *Nature* 622:308-314.
- Lynch, J.D. & J.V. Rueda-Almonacid. 1998. New frogs of the genus *Eleutherodactylus* from the eastern flank of the northern Cordillera Central of Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 22:561-570.
- Lynch, J.D. & J.V. Rueda-Almonacid. 1999. New species of frogs from low and moderate elevations from Caldas transect of the eastern flank of the Cordillera Central land. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 23:307-314.
- Marin, C.M., C. Molina-Zuluaga, A. Restrepo, E. Cano & J.M. Daza. 2018. A new species of *Leucostethus* (Anura: Dendrobatidae) from the eastern versant of the Central Cordillera of Colombia and the phylogenetic status of *Colostethus fraterdanieli*. *Zootaxa* 4461:359-380.
- Martin, A.P. 2002. Phylogenetic Approaches for Describing and Comparing the Diversity of Microbial Communities. *Applied and Environmental Microbiology* 68:3673-3682.
- Moreno-Arias, R. & S. Quintero-Corzo. 2015. Reptiles del Valle Seco del Rio Magdalena (Huila, Colombia). *Caldasia* 37:183-195.
- Moura, M.R. & W. Jetz. 2021. Shortfalls and opportunities in terrestrial vertebrate species discovery. *Nature Ecology & Evolution* 5:631-639.
- Mulcahy, D.G., J.L. Lee, A.H. Miller, M. Chand, M.K. Thura & G.R. Zug. 2018. Filling the BINs of life: report of an amphibian and reptile survey of the Tanintharyi (Tenasserim) Region of Myanmar, with DNA barcode data. *ZooKeys* 757:85-152.
- Nagy, Z.T., G. Sonet, F. Glaw & M. Vences. 2012. First large-scale DNA barcoding assessment of reptiles in the biodiversity hotspot of Madagascar, based on newly designed COI primers. *PLoS One* 7:e34506.
- Navarro-Salcedo, P., S. Duarte-Marín, M. Rada & F. Vargas-Salinas. 2021. Parental status is related to homing motivation in males of the glassfrog *Centrolene savagei*. *Ethology Ecology & Evolution* 33:1-15.
- Ospina-L, A.M., P. Navarro-Salcedo, J.A. Ríos-Soto, S. Duarte-Marín & F. Vargas-Salinas. 2020. Temporal patterns, benefits, and defensive behaviors associated with male parental care in the glassfrog *Centrolene savagei*. *Ethology Ecology & Evolution* 32:162-174.
- Páez, V.P., B. Bock, P. Gutiérrez, V.P. Páez & J.A.P. García. 2002. Guía de campo de algunas especies de anfibios y reptiles de Antioquia. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.
- Palacio-Baena, J.A., E.M. Muñoz Escobar, S.M. Gallo Delgado & M. Rivera-Correa. 2006. Anfibios y Reptiles del Valle de Aburrá. Editorial Zuluaga Ltda., Medellín, Colombia.
- Paz, A., J.L. Brown, C.L. Cordeiro, J. Aguirre-Santoro, C. Assis, R.C. Amaro... & A.C. Carnaval. 2021. Environmental correlates of taxonomic and phylogenetic diversity in the Atlantic Forest. *Journal of Biogeography* 48:1377-1391.



- Pellens, R. & P. Grandcolas. 2016. Biodiversity Conservation and Phylogenetic Systematics: Preserving Our Evolutionary Heritage in an Extinction Crisis. Springer International, Cham, Switzerland.
- Pérez-Santos, C. & A.G. Moreno. 1998. Ofidios de Colombia. Museo Regionale di Scienze Naturali di Torino, Monografia VI, Turin, Italia.
- Peters, J.A. & B.R. Orejas-M. 1970. Catalogue of the Neotropical Squamata. Part I. Snakes. United States National Museum Bulletin 297:347.
- Pinto, R.R. & R. Fernandes. 2017. Morphological variation of *Trilepida macrolepis* (Peters 1857), with reappraisal of the taxonomic status of *Rena affinis* (Boulenger 1884) (Serpentes: Leptotyphlopidae: Epictinae). *Zootaxa* 4244:246-260.
- Posadas, P., D.R.M. Esquivel & J.V. Crisci. 2001. Using Phylogenetic Diversity Measures to Set Priorities in Conservation: An Example from Southern South America. *Conservation Biology* 15:1325-1334.
- R Development Core Team. 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available: <http://www.R-project.org> [Consulted in March 2022].
- Ramírez-Jaramillo, S.M. 2019. Primer reporte sobre la presencia de malformaciones en siete especies de ranas (Amphibia, Anura) de bosque húmedo tropical en el Ecuador. *Revista Latinoamericana de Herpetología* 2:34-40.
- Ratnasingham, S. & P.D. Hebert. 2013. A DNA-based registry for all animal species: The Barcode Index Number (BIN) system. *PLoS one* 8:e66213.
- Rojas-Morales, J.A., H.F. Arias-Monsalve & G.A. González-Durán. 2014. Anfibios y reptiles de la región centro-sur del departamento de Caldas, Colombia. *Biota Colombiana* 15:73-93.
- Rojas-Morales, J.A., S. Escobar-Lasso & P.D.A. Gutiérrez-Cárdenas. 2011. Contribución al conocimiento de los anfibios de la región centro-sur de Caldas: primeros registros de ranas de cristal (Anura: Centrolenidae) para el municipio de Manizales, Colombia. *Boletín científico del centro de museos de la Universidad de Caldas* 15:75-83.
- Román-Palacios, C., S. Fernández-Garzón, A. Valencia-Zuleta, A.F. Jaramillo-Martínez & R.A. Viáfara-Vega. 2017. Lista anotada de la herpetofauna del departamento del Quindío, Colombia. *Biota Colombiana* 18:251-281.
- Romero-Martínez, H.J., C.C. Vidal-Pastrana, J.D. Lynch & P.R. Dueñas. 2008. Estudio preliminar de la fauna Amphibia en el Cerro Murrucucú, PNN-Paramillo y zona amortiguadora, Tierralta, Córdoba, Colombia. *Caldasia* 30: 205-225.
- Ruane, S., R.W. Bryson Jr, R.A. Pyron & F.T. Burbrink. 2014. Coalescent species delimitation in milksnakes (genus *Lampropeltis*) and impacts on phylogenetic comparative analyses. *Systematic Biology* 63:231-250.
- Rueda-Almonacid, J.V. 1999. Anfibios y reptiles amenazados de extinción en Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 23:475-497.
- Sánchez-Giraldo, C. & J.F. Díaz-Nieto. 2015. Dynamics of species composition of small non-volant mammals from the northern Cordillera Central of Colombia. *Mammalia* 79:385-397.
- Sánchez, F., P. Sánchez-Palomino, A. Cadena. 2008. Species richness and indices of abundance of medium-sized mammals in Andean Forest and reforestations with Andean Alder: A preliminary analysis. *Caldasia* 30:197-208.
- Savage, J.M. 2002a. The amphibians and reptiles of Costa Rica: a herpetofauna between two continents, between two seas. University of Chicago press, Chicago, USA.
- Savage, J.M. 2002b. The hylid frogs of Middle America. *Copeia* 2002:545-552.
- Song, H., J.E. Buhay, M.F. Whiting & K.A. Crandall. 2008. Many species in one: DNA barcoding overestimates the number of species when nuclear mitochondrial pseudogenes are coamplified. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105:13486-13491.
- Sukumaran, J. & M.T. Holder. 2010. DendroPy: A Python library for phylogenetic computing. *Bioinformatics* 26:1569-1571.
- Uetz, P., P. Freed & J. Hošek. The Reptile Database. <http://www.reptile-database.org> [Consulted in October 2021].
- Urbina-Cardona, N., E.A. Bernal, N. Giraldo-Echeverry & A. Echeverry-Alcendra. 2015. El monitoreo de herpetofauna en los procesos de restauración ecológica: indicadores y métodos. Pp. 134-147 In: M. Aguilar-Garavito & W. Ramírez (Eds.), *Monitoreo a procesos de restauración ecológica aplicado a ecosistemas*



- terrestres. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá DC, Colombia.
- Vargas-Salinas, F., A. Quintero-Ángel, D. Osorio-Domínguez, J.A. Rojas-Morales, S. Escobar-Lasso, P.D.A. Gutiérrez-Cárdenas, et al. 2014. Breeding and parental behaviour in the glass frog *Centrolene savagei* (Anura: Centrolenidae). *Journal of Natural History* 48:1689-1705.
- Vargas-Salinas, F. & A. Aponte-Gutiérrez. 2016. Diversidad y recambio de especies de anfibios y reptiles entre coberturas vegetales en una localidad del valle del Magdalena medio, departamento de Antioquia, Colombia. *Biota Colombiana* 17:117-137.
- Vargas-Salinas, F., J.A. Rios-Soto & M. Rivera-Correa. 2017. *Centrolene savagei*. *Catalogue of American Amphibians and Reptiles* 912:1-12.
- Velasco, J.A., P.D.A. Gutiérrez-Cárdenas & A. Quintero-Angel. 2010. A new species of *Anolis* of the aequatorialis group (Squamata: Iguania) from the central Andes of Colombia. *The Herpetological Journal* 20:231-236.
- Velasco, J.A. & J.P. Hurtado-Gómez. 2014. A new green anole lizard of the Dactyloa clade (Squamata: Dactyloidae) from the Magdalena River valley of Colombia. *Zootaxa* 3785:201-216.
- Wallach, V., K.L. Williams & J. Boundy. 2015. *Snakes of the World: A Catalogue of Living and Extinct Species*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Webb, C.O., D.D. Ackerly, M.A. McPeck & M.J. Donoghue. 2002. Phylogenies and Community Ecology. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 33:475-505.
- Wiens, J.J. 2011. The niche, biogeography and species interactions. *Philosophical Transactions of The Royal Society B Biological Sciences* 366:2336-2350.
- William, K.L. 1994. *Lampropeltis triangulum*. *Catalogue of American Amphibians and Reptiles* 594:1-10.
- Zar, J.H. 1996. *Biostatistical analysis* (3. ed). Prentice Hall Inc., New York, New York, USA.
- Zipkin, E.F., G.V. DiRenzo, J.M. Ray, S. Rossman & K.R. Lips. 2020. Tropical snake diversity collapses after widespread amphibian loss. *Science* 367:814-816.
- Zwickl, D.J. 2006. Genetic algorithm approaches for the phylogenetic analysis of large biological sequence datasets under the maximum likelihood criterion. Ph.D. Thesis, University of Texas, Austin, Texas, USA.



## APPENDICES

**Appendix 1.** Species richness and abundance of amphibians and reptiles at each PU. \*Endemic species to Colombia, IUCN threat categories: Data Deficient (DD) and Endangered (EN) (see Discussion).

**Apéndice 1.** Riqueza de especies y abundancia de anfibios y reptiles en cada UP. \*Especies endémicas de Colombia, categorías de amenaza de la UICN: Datos insuficientes (DD) y En peligro de extinción (EN) (ver Discusión).

Order	Family	Species	Number of individuals per Production Unit				Total Individuals
			Huertos	La Pradera	La Teresita	Playa Rica	
Anura	Bufonidae	<i>Rhinella horribilis</i>			1		1
	Centrolenidae	<i>Centrolene savagei</i> *	1	3	3	4	11
	Strabomantidae	<i>Pristimantis achatinus</i>	13	6	8	12	39
		<i>Pristimantis palmeri</i> *	12	17	4	14	47
		<i>Pristimantis</i> sp.				1	1
	Dendrobatidae	<i>Leucostethus fraterdanieli</i> *	13	4	2	8	27
	Hylidae	<i>Dendropsophus columbianus</i> *		7	8		15



**Appendix 1 (cont.).** Species richness and abundance of amphibians and reptiles at each PU. \*Endemic species to Colombia, IUCN threat categories: Data Deficient (DD) and Endangered (EN) (see Discussion).

**Apéndice 1 (cont.).** Riqueza de especies y abundancia de anfibios y reptiles en cada PU. \*Especies endémicas de Colombia, categorías de amenaza de la UICN: Datos insuficientes (DD) y En peligro de extinción (EN) (ver Discusión).

Order	Family	Species	Number of individuals per Production Unit				Total Individuals
			Huertos	La Pradera	La Teresita	Playa Rica	
Squamata	Anomalepididae	<i>Trilepida macrolepis</i>	1				1
	Colubridae	<i>Dendrophidion</i> sp.		1			1
	Anolidae	<i>Anolis danieli</i> *	1				1
		<i>Anolis eulaemus</i>	3		1	1	5
		<i>Anolis mariarum</i> *	5	3	3	1	12
		<i>Anolis</i> sp.		1			1
		<i>Anolis ventrimaculatus</i>	4	5	6	9	24
	Dipsadidae	<i>Atractus lehmanni</i> <sup>DD</sup>	4	2	5	4	15
		<i>Atractus</i> sp.		1			1
		<i>Clelia equatoriana</i>			1		1
		<i>Dipsas sanctijoannis</i> *				2	2
		<i>Erythrolamprus bizona</i>				1	1
		<i>Erythrolamprus epinephelus</i>	1	1	1		3
	Elapidae	<i>Micrurus mipartitus</i>		1			1
	Gekkonidae	<i>Lepidoblepharis duolepis</i> *	5				5
Gymnophthalmidae	<i>Pholidobolus vertebralis</i>	3		2	2	7	
	<i>Riama columbiana</i> * <sup>EN</sup>		3			3	
Viperidae	<i>Bothriechis schlegelii</i>	2			1	3	

**Appendix 2.** Abundance and relative abundance (RA) of amphibian species recorded in each of the four PUs individually and across all four PUs. \*Endemic species to Colombia.

**Apéndice 2.** Abundancia y abundancia relativa (RA) de especies de anfibios registradas en cada una de las cuatro UP individualmente y en las cuatro UP. \*Especie endémica a Colombia.

Species	Huertos	RA	Pradera	RA	Teresita	RA	Playa Rica	RA	Total Ind.	RA Total
<i>Rhinella horribilis</i>	0	0	0	0	1	0.04	0	0	1	0.01
<i>Centralene savagei</i> *	1	0.03	3	0.08	3	0.12	4	0.1	11	0.08
<i>Pristimantis achatinus</i>	13	0.33	6	0.16	8	0.31	12	0.31	39	0.28
<i>Pristimantis palmeri</i> *	12	0.31	17	0.46	4	0.15	14	0.36	47	0.33
<i>Pristimantis</i> sp.	0	0	0	0	0	0	1	0.03	1	0.01
<i>Leucostethus fraterdanieli</i> *	13	0.33	4	0.11	2	0.08	8	0.21	27	0.19
<i>Dendropsophus columbianus</i> *	0	0	7	0.19	8	0.31	0	0	15	0.11
<b>Total</b>	<b>39</b>	<b>1</b>	<b>37</b>	<b>1</b>	<b>26</b>	<b>1</b>	<b>39</b>	<b>1</b>	<b>141</b>	<b>1</b>



**Appendix 3.** Abundance and relative abundance (RA) of reptile species recorded in each of the four PUs individually and across all four PUs. \*Endemic species to Colombia.

**Apéndice 3.** Abundancia y abundancia relativa (RA) de especies de reptiles registradas en cada una de las cuatro UP individualmente y en las cuatro UP. \*Especie endémica a Colombia.

Species	Huertos	RA	Pradera	RA	Teresita	RA	Playa Rica	RA	Total Ind.	RA Total
<i>Trilepida macrolepis</i>	1	0.03	0	0	0	0	0	0	1	0.01
<i>Dendrophidion</i> sp.	0	0	1	0.06	0	0	0	0	1	0.01
<i>Anolis danieli</i> *	1	0.03	0	0	0	0	0	0	1	0.01
<i>Anolis eulaemus</i>	3	0.1	0	0	1	0.05	1	0.05	5	0.06
<i>Anolis mariarum</i> *	5	0.17	3	0.17	3	0.16	1	0.05	12	0.14
<i>Anolis</i> sp.	0	0	1	0.06	0	0	0	0	1	0.01
<i>Anolis ventrimaculatus</i>	4	0.14	5	0.28	6	0.32	9	0.43	24	0.28
<i>Atractus lehmanni</i> <sup>^</sup>	4	0.14	2	0.11	5	0.26	4	0.19	15	0.17
<i>Atractus</i> sp.	0	0	1	0.06	0	0	0	0	1	0.01
<i>Clelia equatoriana</i>	0	0	0	0	1	0.05	0	0	1	0.01
<i>Dipsas sanctijoannis</i> *	0	0	0	0	0	0	2	0.1	2	0.02
<i>Erythrolamprus bizona</i>	0	0	0	0	0	0	1	0.05	1	0.01
<i>Erythrolamprus epinephelus</i>	1	0.03	1	0.06	1	0.05	0	0	3	0.03
<i>Micrurus mipartitus</i>	0	0	1	0.06	0	0	0	0	1	0.01
<i>Lepidoblepharis dualepis</i> *	5	0.17	0	0	0	0	0	0	5	0.06
<i>Pholidobolus vertebralis</i>	3	0.1	0	0	2	0.11	2	0.1	7	0.08
<i>Riama columbiana</i> *	0	0	3	0.17	0	0	0	0	3	0.03
<i>Bothriechis schlegelii</i>	2	0.07	0	0	0	0	1	0.05	3	0.03
Total	29	1	18	1	19	1	21	1	87	1

**Appendix 4.** Individuals sequenced in this study. New public BINs in BOLD Systems are shown in bold. \*New sequences for Colombia. ^Inconsistencies between morphological identification and the DNA barcode identification provided by BOLD Systems (see Discussion).

**Apéndice 4.** Individuos secuenciados en este estudio. Los nuevos BIN públicos en BOLD Systems se muestran en negrita. \*Nuevas secuencias para Colombia. ^Inconsistencias entre la identificación morfológica y la identificación del código de barras de DNA proporcionada por BOLD Systems (ver Discusión).

BOLD ID	Morphological identification	Identity (%)	BIN	Barcode identification at BOLD Systems
<b>CARHE010-21</b>	<i>Rhinella horribilis</i> ^	99.39	BOLD:AAB1186	<i>Rhinella marina</i>
<b>CARHE007-21</b>	<i>Centrolene savagei</i> *^	94.79	BOLD:ACK9980	<i>Cochranella savagei</i>
<b>CARHE021-21</b>	<i>Centrolene savagei</i> *^	94.79	BOLD:ACK9980	<i>Cochranella savagei</i>
<b>CARHE017-21</b>	<i>Pristimantis achatinus</i>	100	BOLD:ACH5902	<i>Pristimantis achatinus</i>
<b>CARHE020-21</b>	<i>Pristimantis achatinus</i>	100	BOLD:ACH5902	<i>Pristimantis achatinus</i>
<b>CARHE009-21</b>	<i>Pristimantis achatinus</i>	100	BOLD:ACH5902	<i>Pristimantis achatinus</i>
<b>CARHE023-21</b>	<i>Pristimantis palmeri</i>	100	BOLD:AAT9612	<i>Pristimantis palmeri</i>
<b>CARHE001-21</b>	<i>Pristimantis palmeri</i>	99.85	BOLD:AAT9612	<i>Pristimantis palmeri</i>
<b>CARHE002-21</b>	<i>Pristimantis palmeri</i>	99.85	BOLD:AAT9612	<i>Pristimantis palmeri</i>
<b>CARHE006-21</b>	<i>Pristimantis palmeri</i>	100	BOLD:AAT9612	<i>Pristimantis palmeri</i>
<b>CARHE008-21</b>	<i>Pristimantis palmeri</i>	100	BOLD:AAT9612	<i>Pristimantis palmeri</i>
<b>CARHE012-21</b>	<i>Pristimantis palmeri</i>	100	BOLD:AAT9612	<i>Pristimantis palmeri</i>
<b>CARHE014-21</b>	<i>Pristimantis palmeri</i>	99.85	BOLD:AAT9612	<i>Pristimantis palmeri</i>
<b>CARHE015-21</b>	<i>Pristimantis palmeri</i>	99.85	BOLD:AAT9612	<i>Pristimantis palmeri</i>
<b>CARHE016-21</b>	<i>Pristimantis palmeri</i>	99.85	BOLD:AAT9612	<i>Pristimantis palmeri</i>
<b>CARHE024-21</b>	<i>Pristimantis palmeri</i>	100	BOLD:AAT9612	<i>Pristimantis palmeri</i>
<b>CARHE018-21</b>	<i>Pristimantis</i> sp.*^	91.67	BOLD:AAV6492	<i>Pristimantis</i> aff. <i>taeniatus</i>
<b>CARHE003-21</b>	<i>Leucostethus fraterdanieli</i> ^	99.84	BOLD:AAE9581	<i>Colostethus fraterdanieli</i>
<b>CARHE004-21</b>	<i>Leucostethus fraterdanieli</i> ^	99.69	BOLD:AAE9581	<i>Colostethus fraterdanieli</i>
<b>CARHE013-21</b>	<i>Leucostethus fraterdanieli</i> ^	99.69	BOLD:AAE9581	<i>Colostethus fraterdanieli</i>
<b>CARHE005-21</b>	<i>Dendropsophus columbianus</i>	98.93	BOLD:ACC1738	<i>Dendropsophus columbianus</i>
<b>CARHE011-21</b>	<i>Dendropsophus columbianus</i>	99.06	BOLD:ACC1738	<i>Dendropsophus columbianus</i>
<b>CARHE019-21</b>	<i>Dendropsophus columbianus</i>	99.22	BOLD:ACC1738	<i>Dendropsophus columbianus</i>
<b>CARHE022-21</b>	<i>Dendropsophus columbianus</i>	99.22	BOLD:ACC1738	<i>Dendropsophus columbianus</i>
<b>CARHE040-21</b>	<i>Trilepida macrolepis</i> ^	85.45	BOLD:ADC8672	<i>Rena humilis</i>
<b>CARHE039-21</b>	<i>Anolis danieli</i> *^	93.81	BOLD:ACH6055	-

**Appendix 4 (cont.).** Individuals sequenced in this study. New public BINs in BOLD Systems are shown in bold. \*New sequences for Colombia. ^Inconsistencies between morphological identification and the DNA barcode identification provided by BOLD Systems (see Discussion).

**Apéndice 4 (cont.).** Individuos secuenciados en este estudio. Los nuevos BIN públicos en BOLD Systems se muestran en negrita. \*Nuevas secuencias para Colombia. ^Inconsistencias entre la identificación morfológica y la identificación del código de barras de DNA proporcionada por BOLD Systems (ver Discusión).

BOLD ID	Morphological identification	Identity (%)	BIN	Barcode identification at BOLD Systems
CARHE036-21	<i>Anolis eulaemus</i> <sup>^</sup>	89.67	BOLD:ADM5331	<i>Anolis anoriensis</i>
CARHE043-21	<i>Anolis eulaemus</i> <sup>^</sup>	89.52	BOLD:ADM5331	<i>Anolis anoriensis</i>
CARHE029-21	<i>Anolis</i> sp. <sup>^</sup>	89.12	BOLD:ACH5307	<i>Anolis calimae</i>
CARHE025-21	<i>Anolis ventrimaculatus</i>	94.2	BOLD:ACI0307	<i>Anolis ventrimaculatus</i>
CARHE044-21	<i>Anolis ventrimaculatus</i>	94.36	BOLD:ACI0307	<i>Anolis ventrimaculatus</i>
CARHE049-21	<i>Anolis ventrimaculatus</i>	94.22	BOLD:ACI0307	<i>Anolis ventrimaculatus</i>
CARHE050-21	<i>Anolis ventrimaculatus</i>	94.39	BOLD:ACI0307	<i>Anolis ventrimaculatus</i>
CARHE051-21	<i>Anolis ventrimaculatus</i>	94.36	BOLD:ACI0307	<i>Anolis ventrimaculatus</i>
CARHE038-21	<i>Atractus lehmanni</i> <sup>^</sup>	97.64	BOLD:ACL0112	<i>Atractus lasallei</i>
CARHE045-21	<i>Atractus lehmanni</i> <sup>^</sup>	97.66	BOLD:ACL0112	<i>Atractus lasallei</i>
CARHE027-21	<i>Atractus lehmanni</i> <sup>^</sup>	97.66	BOLD:ACL0112	<i>Atractus lasallei</i>
CARHE032-21	<i>Atractus lehmanni</i> <sup>^</sup>	97.66	BOLD:ACL0112	<i>Atractus lasallei</i>
CARHE033-21	<i>Clelia equatoriana</i>	97.86	BOLD:ACK9778	<i>Clelia equatoriana</i>
CARHE047-21	<i>Dipsas sanctijoannis</i> <sup>*^</sup>	91.25	BOLD:ACJ9742	<i>Dipsas</i> sp.
CARHE048-21	<i>Erythrolamprus bizona</i> <sup>^</sup>	96.77	BOLD:ACI6138	<i>Lampropeltis triangulum</i>
CARHE031-21	<i>Erythrolamprus epinephelus</i>	99.16	BOLD:ACK9765	<i>Erythrolamprus epinephelus</i>
CARHE034-21	<i>Erythrolamprus epinephelus</i>	99.49	BOLD:ACK9765	<i>Erythrolamprus epinephelus</i>
CARHE026-21	<i>Micrurus mipartitus</i>	99.01	BOLD:ACI5866	<i>Micrurus mipartitus</i>
CARHE030-21	<i>Lepidoblepharis duolepis</i> <sup>*^</sup>	83.83	BOLD:ACI5205	<i>Lepidoblepharis xanthostigma</i>
CARHE037-21	<i>Lepidoblepharis duolepis</i> <sup>*^</sup>	83.83	BOLD:ACI5205	<i>Lepidoblepharis xanthostigma</i>
CARHE035-21	<i>Bothriechis schlegelii</i>	95.19	BOLD:ACJ9812	<i>Bothriechis schlegelii</i>
CARHE042-21	<i>Bothriechis schlegelii</i>	95.5	BOLD:ACJ9812	<i>Bothriechis schlegelii</i>
CARHE046-21	<i>Bothriechis schlegelii</i>	95.5	BOLD:ACJ9812	<i>Bothriechis schlegelii</i>

**Appendix 5.** COI sequences used for the phylogenetic reconstruction.

**Apéndice 5.** Secuencias COI utilizadas para la reconstrucción filogenética.

Order	Family	Identification	Voucher	BOLD/ GenBank	COI (pb)	Source
<b>Anura</b>	Bufoidea	<i>Rhinella horribilis</i>	JCA1353	CARHE010-21	663	This study
	Centrolenidae	<i>Centrolene savagei</i>	JCA1303	CARHE007-21	663	This study
	Strabomantidae	<i>Pristimantis achatinus</i>	JCA1331	CARHE009-21	663	This study
		<i>Pristimantis palmeri</i>	JCA1413	CARHE014-21	663	This study
		<i>Pristimantis</i> sp.	JCA1430	CARHE018-21	663	This study
	Dendrobatidae	<i>Leucostethus fraterdanieli</i>	JCA1273	CARHE003-21	663	This study
	Hylidae	<i>Dendropsophus columbianus</i>	JCA1448	CARHE022-21	663	This study
<b>Squamata</b>	Leptotyphlopidae	<i>Trilepida macrolepis</i>		CARHE040-21	663	
			JCA1385			This study
	Colubridae	<i>Dendrophidion percarinatum</i>	CH:5403	MH140114	654	Mulcahy et al. 2018
	Dactyloidae	<i>Anolis danieli</i>	JCA1384	CARHE039-21	588	This study
		<i>Anolis eulaemus</i>	JCA1372	CARHE036-21	631	This study
		<i>Anolis</i> sp.	JCA1304	CARHE029-21	605	This study
		<i>Anolis ventrimaculatus</i>	JCA1254	CARHE025-21	663	This study
	Dipsadidae	<i>Atractus lehmanni</i>	JCA1406	CARHE045-21	663	This study
		<i>Clelia equatoriana</i>	JCA1361	CARHE033-21	661	This study
		<i>Dipsas sanctijoannis</i>	JCA1416	CARHE047-21	660	This study
		<i>Erythrolamprus bizona</i>	JCA1421	CARHE048-21	658	This study
		<i>Erythrolamprus epinephelus</i>	JCA1367	CARHE034-21	663	This study
	Elapidae	<i>Micrurus mipartitus</i>	JCA1278	CARHE026-21	651	This study
	Gekkonidae	<i>Lepidoblepharis duolepis</i>	JCA1320	CARHE030-21	663	This study
	Gymnophthalmidae	<i>Pholidobolus vertebralis</i>	CH:5627	MH140319	654	Mulcahy et al. 2018
Viperidae	<i>Bothriechis schlegelii</i>	JCA1368	CARHE035-21	649	This study	

# PREDATION OF THE CLOUDY SNAIL-EATER, *SIBON NEBULATUS*, BY THE GREAT KISKADEE, *PITANGUS SULPHURATUS*, IN THE NORTHERN LOWLANDS OF COSTA RICA

DEPREDACIÓN DE LA CARACOLERA COMÚN, *SIBON NEBULATUS*, POR EL CRISTOFUÉ, *PITANGUS SULPHURATUS*, EN LAS TIERRAS BAJAS DEL NORTE DE COSTA RICA

José Manuel Mora<sup>1,2\*</sup> & Elián Villalobos Alvarado<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Carrera de Gestión Ecoturística, Sede Central, Universidad Técnica Nacional, Alajuela, Costa Rica.

<sup>2</sup>Department of Biology and Museum of Vertebrate Biology, Portland State University, Portland, Oregon, USA.

<sup>3</sup>Carrera de Gestión Ecoturística, Sede Central, Universidad Técnica Nacional, Alajuela, Costa Rica.

\*Correspondence: josemora07@gmail.com

Received: 2024-04-22. Accepted: 2024-06-13. Published: 2024-07-23.

Editor: Mauricio Ocampo Ballivian, Bolivia.

**Resumen.** – Varias serpientes están adaptadas a un estilo de vida arbóreo, incluidas algunas que consumen moluscos, como las pertenecientes al género *Sibon*. En Costa Rica hay siete especies de *Sibon* y una de las más comunes es la caracolera común (*Sibon nebulatus*), la cual es una serpiente nocturna de hábitos principalmente arborícolas, aunque a veces se encuentra en el suelo. Con base en una observación registrada por fotografía en las tierras bajas del norte de Costa Rica, reportamos la depredación de la caracolera común por parte del cristofué (*Pitangus sulfuratus*). Este registro contribuye al conocimiento de las interacciones tróficas de ambas especies.

**Palabras clave.** – Dieta, Dipsadidae, interacciones inespecíficas, serpiente arborícola.

**Abstract.** – Several snakes are adapted to an arboreal lifestyle, including some that consume mollusks, such as those belonging to the genus *Sibon*. In Costa Rica, there are seven species of *Sibon*, and one of the most common is the Cloudy Snail-eater (*Sibon nebulatus*), a nocturnal snake with primarily arboreal habits but also sometimes found on the ground. Based on a photographically documented observation in the northern lowlands of Costa Rica, we report the predation of the Cloudy Snail-eater by the Great Kiskadee (*Pitangus sulfuratus*). This record contributes to the knowledge of the trophic interactions of both species.

**Key words.** – Arboreal snake, diet, Dipsadidae, interspecific interactions.

The Neotropical region boasts abundant species diversity (Brown, 2014), this diversity spans various trophic levels, encompassing both predators and preys (Freestone et al., 2011). Predator-prey dynamics serve as pivotal forces driving natural selection, shaping ecological community structures, and influencing ecosystem functioning (Portalier et al., 2019; Valdez, 2020).

Costa Rica has a high diversity of predators, including snakes belonging to the Dipsadidae family with 65 species (Solórzano, 2022). Within this family there are several groups of species with specific characteristics adapted to particular habits. Of note

is the high number of arboreal snakes that consume mollusks and, although they represent only 12% of arboreal snakes, specialization for pareids and mollusks is included in the diet of many dipsadines, such as species of the genus *Sibon* (Harrington et al., 2018).

*Sibon* snakes are part of a group informally called “goo-eaters” because their diets consist entirely of soft-bodied invertebrates, exclusively invertebrates such as gastropod mollusks and annelids representing a highly diversified, ecologically specialized clade (Mora et al., 2023a). As specialized

“goo-eating” dipsadine snakes display a set of morphological and histochemical adaptations linked to the capture of their soft-bodied, viscous invertebrate prey (dos Santos et al., 2017). Some of the adaptations for this feeding habit is the presence of a complex protein-secreting delivery system in dipsadini (Zaher et al., 2014; dos Santos et al., 2017).

There are currently 22 species of *Sibon* found from Mexico through Central America to Colombia (Uetz et al., 2023). Among them, one of the most widely distributed species is the Cloudy Snail-eater, *Sibon nebulatus* (Linnaeus, 1758), which inhabits both the Pacific and Atlantic slopes, from southeastern Mexico through Central America to Ecuador, Colombia and Brazil, as well as some Caribbean islands (Uetz et al., 2023). In Costa Rica, it is most commonly found on the Atlantic slope, including the northern lowlands, and in the southwestern Pacific region, although it is occasionally found elsewhere on the Pacific slope and in the Central Valley (Leenders, 2019). Its altitudinal range extends from near sea level to 1,200 m in Costa Rica (Solórzano, 2022).

The Cloudy Snail-eater is abundant and widely distributed, thriving in various habitat types, from untouched primary rainforests to urban parks, gardens, and developed areas (Solórzano, 2022). It exhibits nocturnal and arboreal behavior, although it is occasionally observed on the ground while traversing open spaces between trees (Leenders, 2019).

Due to its highly specialized diet consisting on slugs and snails, the Cloudy Snail-eater exhibits specific anatomical adaptations (Harrington et al., 2018). These adaptations include modified jaws, teeth, and skull structures, which enable the snake to extract snails from their shells and swallow them whole (Leenders, 2019). Despite its appearance, characterized by spreading its jaws to resemble a triangular, viper-like head on occasion, the Cloudy Snail-eater is entirely non-aggressive and does not attempt to bite (Leenders, 2019).

The Cloudy Snail-eater typically measures an average total length of 85 cm and possesses a somewhat robust physique with a strongly compressed body. It features a prehensile tail,

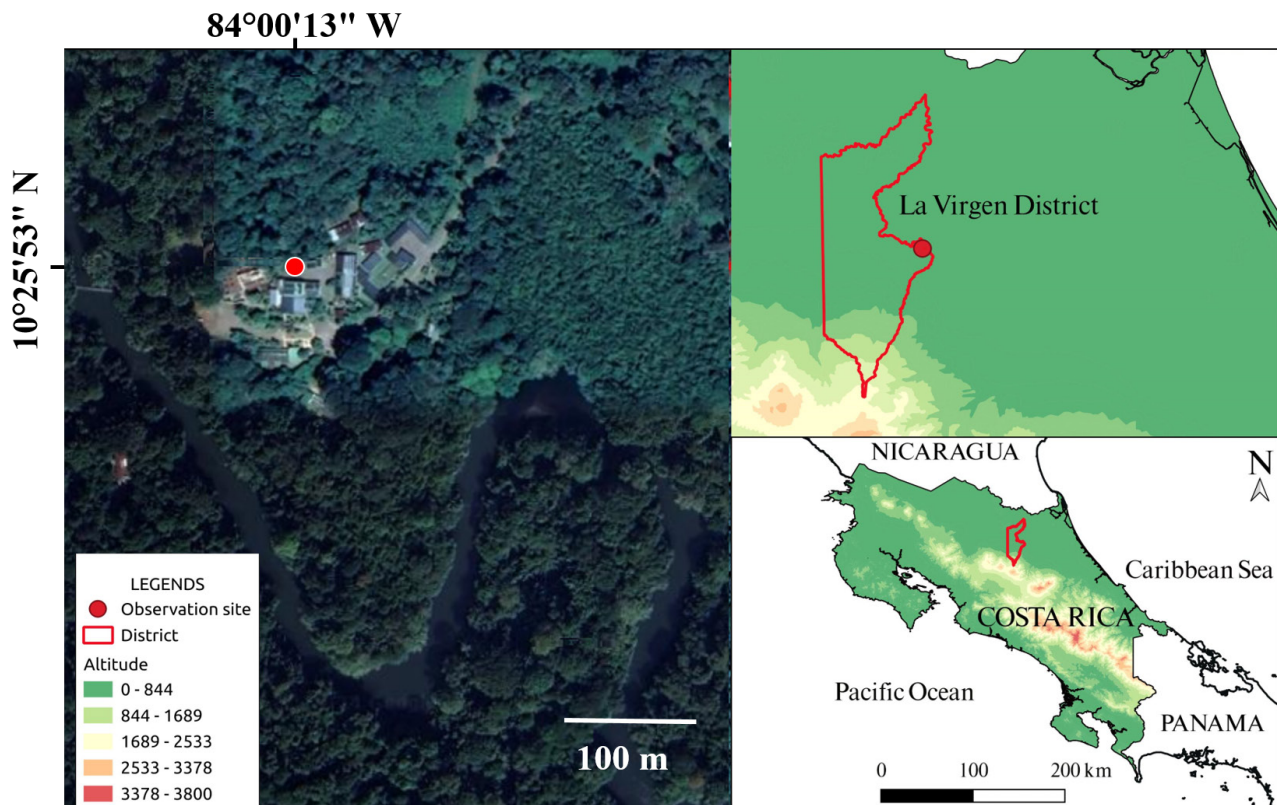


Figura 1. Sitio de depredación de *Sibon nebulatus*, en La Selva, Sarapiquí, Heredia, Costa Rica.

Figure 1. Predation site of *Sibon nebulatus* in La Selva, Sarapiquí, Heredia, Costa Rica.

a large head with a bluntly-rounded snout, and large eyes with vertically elliptical pupils (Leenders, 2019). Its dorsal coloration is predominantly gray, adorned with black bands along the body and tail. These bands are bordered on both sides by a linear series of cream or pale salmon-pink spots (Leenders, 2019).

On 24<sup>th</sup> January 2024, at 10:04 h, as a result of an incidental observation during a bird-watching tour, we observe a predation event in which a Cloudy Snail-eater was attacked by a Great Kiskadee, *Pitangus sulphuratus*, near the dining room of La Selva Biological Station (10°25'53" N, 84°00'13" W, 48 m a.s.l.; Fig. 1). The snake was hanging from the bird's beak, and after approximately 2 min of being beaten, it no longer showed signs of life (Fig. 2). After a few seconds, the Great Kiskadee flew out of our range of view, carrying the snake with it.

As a generalist omnivore, the Great Kiskadee consumes a varied diet that includes a wide range of animal prey, such as arthropods and vertebrates (including fish, lizards, snakes, and frogs), as well as fruits and human-provided food items like dog food and bird seed when available (Mathys, 2020). Its diet primarily consists of large insects, small lizards, snakes, and frogs, and it is known to drop from low perches to catch prey or hop about on the ground (Stiles & Skutch, 1989). Additionally, it may occasionally raid nests of smaller birds and dive into shallow waters to catch small fish, tadpoles, and insects (Stiles & Skutch, 1989). Likewise, the Great Kiskadee also feeds on fruits while perched or in-flight fruits while perched or in flight (Stiles & Skutch, 1989).

In a study carried out in the Pantanal of Brazil, bats and other vertebrates were identified in the diet of the Great Kiskadee;



**Figura 2.** *Pitangus sulphuratus* depredando a una caracolera común, *Sibon nebulatus*, en la Estación Biológica La Selva, Sarapiquí, Heredia, Costa Rica.

**Figure 2.** *Pitangus sulphuratus* predating a Cloudy Snail-eater, *Sibon nebulatus*, at La Selva Biological Station, Sarapiquí, Heredia, Costa Rica.



however, no snakes were observed (Fischer et al., 2010; Munin et al., 2012). Among the amphibians and reptiles documented as prey of the Great Kiskadee are frogs (*Pleurodema borelli*), turtles (*Phrynops hilarii*), lizards (*Hemidactylus mabouia*; *Sceloporus melanorhinus*) and small snakes, although the scientific literature does not specify the species (Peñas Queralt et al., 2023). These researchers reported predation of *Drymobius margaritiferus* by the Greater Kiskadee (Peñas-Queralt et al., 2023).

Gathering data on specific instances, such as the one described here, including the taxa involved in these interactions (Mora et al., 2023b), is an important initial step in understanding the level of selective pressure exerted by specific predators on the herpetofauna (Mora et al., 2023c). This case of a Great Kiskadee preying on the Clouded Snail-eater is just one example of the vast amount of information on snake ecology that remains unknown. Even anecdotal information deserves publication to contribute to a better understanding of the trophic relationships of Neotropical reptiles (Quirós Rosales et al., 2023).

**Acknowledgments.**— G. Chaves (Cachí) kindly prepared the map in Fig. 1. JMM acknowledges the time and academic support provided by Emilce Rivera, Department head, Carrera de Gestión Ecoturística, Universidad Técnica Nacional, Alajuela, Costa Rica.

## CITED LITERATURE

- Brown, J.H. 2014. Why are there so many species in the tropics? *Journal of Biogeography* 41:8-22.
- Dos Santos Meireles, M., F. Magalhães da Silva, E. Hingst-Zaher, F. Andrade Machado, H. El Dine Zaher & A.L. da Costa Prudente. 2017. Cranial adaptations for feeding on snails in species of *Sibynomorphus* (Dipsadidae: Dipsadinae). *Zoology* 120:24-30.
- Fischer, E., R.L. Munin, J.M. Longo, W. Fischer & P.R. De Souza. 2010. Predation on bats by Great Kiskadees. *Journal of Field Ornithology* 81:17-20.
- Freestone, A.L., R.W. Osman, G.M. Ruiz & M.E. Torchin. 2011. Stronger predation in the tropics shapes species richness patterns in marine communities. *Ecology* 92:983-993.
- Harrington, S.M., J.M. de Haan, L. Shapiro & S. Ruane. 2018. Habits and characteristics of arboreal snakes worldwide: arboreality constrains body size but does not affect lineage diversification. *Biological Journal of the Linnean Society* 125:61-71.
- Leenders, T. 2019. Reptiles of Costa Rica: a field guide. Zona Tropical Publications, Ithaca, New York, USA.
- Mathys, B. 2020. Great Kiskadee (*Pitangus sulphuratus* Linnaeus, 1766). Pp. 60-62. In C.T. Downs & L.A. Hart (Eds.). *Invasive Birds Global Trends and Impacts*. CABI, Boston, Massachusetts, USA.
- Mora, J.M., R. Vargas, R. Alvarado & L.I. López. 2023a. Two Neotropical Snakes Attacked as Prey by Army Ants in Costa Rica. *Caribbean Journal of Science* 53:374-383.
- Mora, J.M., R. Alvarado & H. Alfaro Lara. 2023b. Predation of a Yellow-Headed Gecko (*Gonatodes albogularis*) by a Bromeliad Spider *Cupiennius coccineus*. *Revista Latinoamericana de Herpetología* 6:6-12.
- Mora, J.M., K.M. Gutiérrez & L.I. López. 2023c. Predation of a La Loma Robber Frog, *Pristimantis caryophyllaceus* (Barbour, 1928), by a Rhinoceros spear Bearer, *Copiphora rhinoceros* Pictet, 1888. *Caribbean Journal of Science* 53:222-228.
- Munin, R.L., E. Fischer & J.M. Longo. 2012. Foraging of Great Kiskadees (*Pitangus sulphuratus*) and food items offered to nestlings in the Pantanal. *Brazilian Journal of Biology* 72:459-462.
- Peñas-Queralt, A., C. Mora Rueda & P.E. Nahuat-Cervera. 2023. Depredación de culebra corredora de petatillos (*Drymobius margaritiferus*) por un Luis Bienteveo (*Pitangus sulphuratus*) en Campeche, México. *Revista Latinoamericana de Herpetología* 6:116-119.
- Portalier, S.M.J., G.F. Fussmann, M. Loreau & M. Cherif. 2019. The mechanics of predator-prey interactions: First principles of physics predict predator-prey size ratios. *Functional Ecology* 33:323-334.
- Quirós Rosales, M., J.M. Mora & R. Alvarado. 2023. Predation of *Lepidophyma flavimaculatum* (Squamata: Xantusiidae) by *Basiliscus plumifrons* (Squamata: Corytophanidae). *Phyllomedusa: Journal of Herpetology* 22:69-74.
- Solórzano, A. 2022. Serpientes de Costa Rica: Distribución, Taxonomía e Historia Natural. 2nd. ed. Topografía e imprenta LIL S.A., San José, Costa Rica.



- Stiles, F.G. & A.F. Skutch. 1989. Guide to the Birds of Costa Rica. Comstock Publishing Associates. Ithaca, New York, USA.
- Uetz, P., P. Freed, R. Aguilar, F. Reyes, J. Kudera & J. Hošek (eds.). 2023. The Reptile Database. <http://www.reptile-database.org>. [Consulted in March 2024].
- Valdez, J.W. 2020. Arthropods as vertebrate predators: a review of global patterns. *Global Ecology and Biogeography* 29:1691-1703.
- Zaher, H., L. Oliveira, F.G. Grazziotin, M. Campagner, C. Jared, M.M. Antoniazzi & A.L. Prudente. 2014. Consuming viscous prey: a novel protein-secreting delivery system in neotropical snail-eating snakes. *BMC Evolutionary Biology* 14:58.



# DISTRIBUTION EXTENSION OF *LEPTODACTYLUS RHODOMERUS* (LEPTODACTYLIDAE) TOWARDS THE CORDILLERA CENTRAL OF COLOMBIA

## EXTENSIÓN DE DISTRIBUCIÓN DE *LEPTODACTYLUS RHODOMERUS* (LEPTODACTYLIDAE) HACIA LA CORDILLERA CENTRAL DE COLOMBIA

Sebastián Florez-Lucero<sup>1,2</sup>, Esteban Garzón-Franco<sup>1,2,3</sup> & Esteban Alzate-Basto<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Semillero de herpetología Reptarium, grupo de investigación en biología, Universidad CES, Medellín, Colombia.

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias y Biotecnología Universidad CES, Medellín, Colombia.

<sup>3</sup>Museo de Ciencias Naturales de La Salle del Instituto Tecnológico Metropolitano, Medellín, Colombia.

\*Correspondence: [lalzateb@ces.edu.co](mailto:lalzateb@ces.edu.co)

Received: 2024-03-21. Accepted: 2023-06-12. Published: 2024-08-06.

Editor: Ricardo Montero, Argentina

*Leptodactylus* Fitzinger, 1826 (Leptodactylidae) is a Neotropical genus of frogs composed of 84 currently recognized species (Frost, 2024), which are widely distributed in the Neotropical lowlands from southern North America through Central America to southern South America, being also found in the West Indies (de Sá et al., 2014). The genus is widespread throughout South America, being found on both sides of the Andes in the northern part of South America but, restricted to the eastern Andes throughout almost all of its distribution in South America (de Sá et al., 2014).

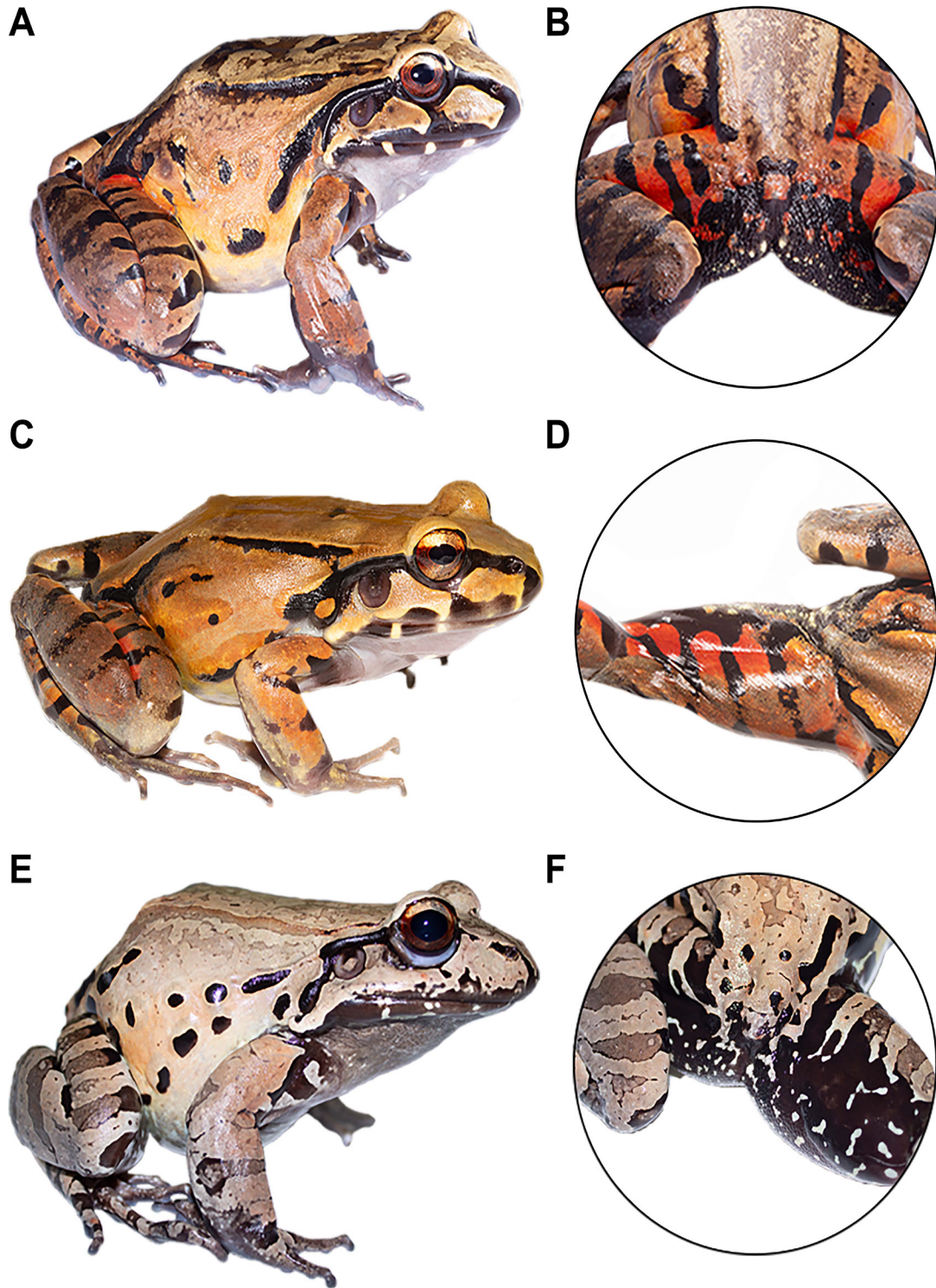
The genus includes four species groups (de Sá et al., 2014). The *L. pentadactylus* species group consists of 17 species distributed mainly in South America, characterized by harboring the largest species of the genus (Heyer, 1979; Heyer, 2005; de Sá et al., 2014). In Colombia, eight species belonging to this group are found (Heyer, 1979; Heyer, 2005; de Sá et al., 2014): *L. knudseni* Heyer, 1972; *L. lithonaetes* Heyer, 1995; *L. pentadactylus* (Laurenti, 1768); *L. rhodomerus* Heyer, 2005; *L. rhodomystax* Boulenger, 1884; *L. rugosus* Noble, 1923; *L. savagei* Heyer, 2005 and *L. stenodema* Jiménez de la Espada, 1875. *L. rhodomerus* is distributed throughout the lowland tropical rainforests of the Pacific region of Colombia and in the adjacent tropical forests of northwestern Ecuador, at elevations between 50 and 1,100 meters above sea level (Heyer, 2005). In this article we extend the known distribution of *L. rhodomerus* based on two individuals collected on the eastern slope of the Cordillera Central in the municipality of Amalfi, department of Antioquia, Colombia.

During a characterization of the amphibian and reptile diversity of the Arenas Blancas Nature Reserve (6.950048° N, 74.901983° W, WGS84; 1,114 m a.s.l.) in the municipality of Amalfi, Antioquia, Colombia, between December 2022 and February 2023, two adult specimens of *L. rhodomerus* were found

and collected. These specimens were sacrificed by an overdose of 2% lidocaine, fixed in 10% formaldehyde and preserved in 70% ethanol following the standards proposed by Pisani (1973) and McDiarmid (2006). The specimens were deposited in the Colecciones Biológicas de la Universidad CES, colección de Herpetología (CBUCES-D). The Identification of individuals was based on the diagnostic characters proposed by Heyer (2005), being these the bright red coloration on the posterior surfaces of thighs in life; dentigerous process of vomer in strongly arched series; dorsal texture shagreen, with small keratinized-tipped tubercles scattered in the postsacral region; well-developed tympanic fold, extending from eye to above forelimbs insertion; upper lip with three distinct dark triangle-shaped markings; well-defined interocular band, outlined with a darker border; very extensive irregular-shaped glands in groin extending anteriorly towards flanks.

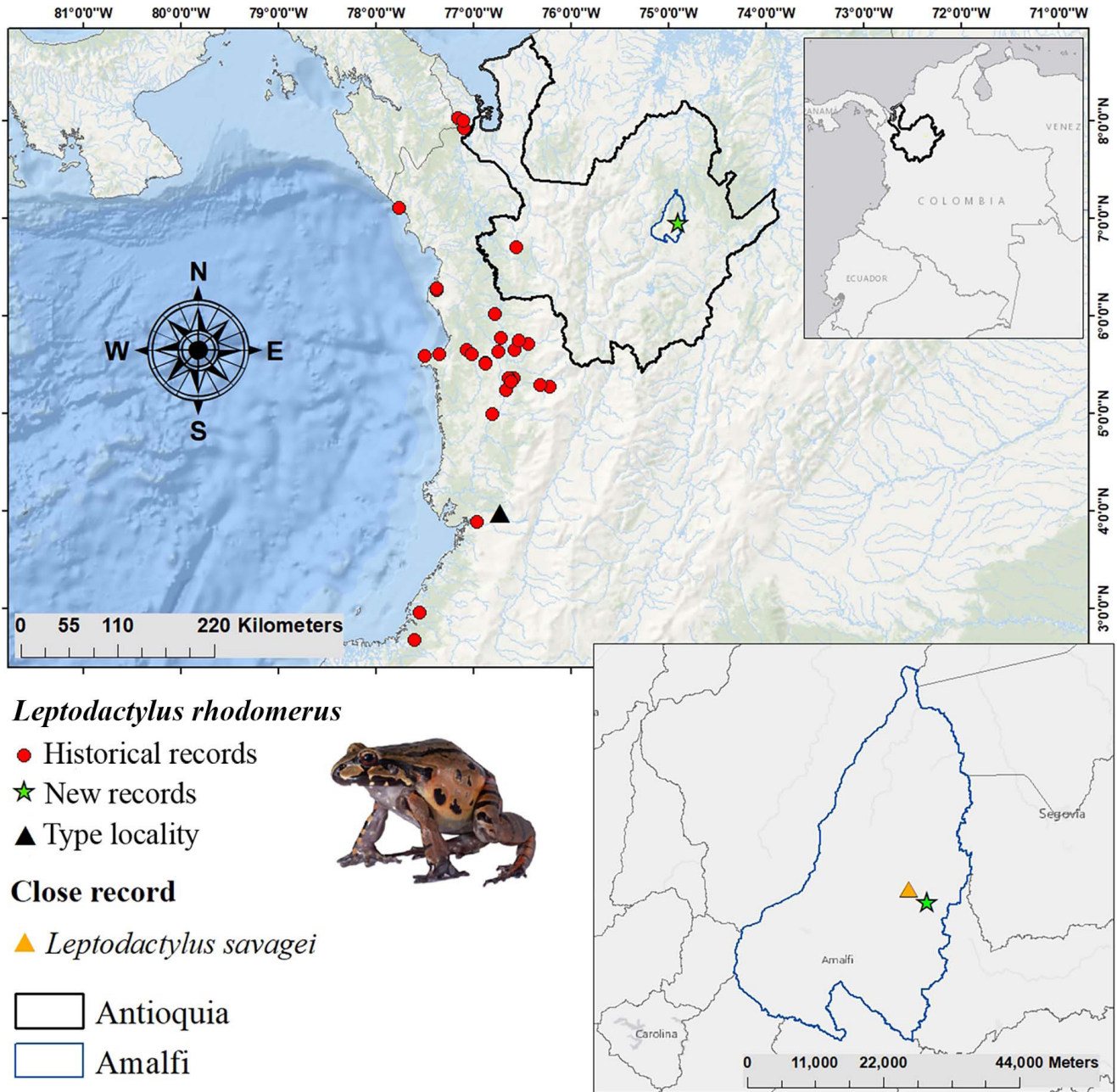
The first record was made on December 19th, 2022 at 19:20 h. This corresponds to an adult female (CBUCES-D 774, SVL = 122.2 mm) that was found on the leaf litter on the ground of a low premontane forest (Fig. 1 A-B). When observed, it fled and hid in its burrow, which was approximately 60 cm deep at ground level. Once the individual was placed in a bag it began to roll around inside the bag, enveloping itself in a layer of foam, which upon contact with the skin caused irritation followed by a stinging sensation, triggering an affectation of the mucous membranes of the respiratory tract for a period of 15 minutes. The second record was made on February 6th, 2023 at 20:21 h. This also corresponds to an adult female (CBUCES-D 987, SVL = 102.0 mm) (Fig. 1 C-D), which was found on the ground inside a pasture near a rural road, an area with presence of cattle.

At present, eight species of the *L. pentadactylus* group have been formally reported for Colombia: *L. knudseni*, which is



**Figura 1.** Vista general y coloración posterior de los muslos de los individuos registrados de *Leptodactylus rhodomerus* (A-D) y *Leptodactylus savagei* (E-F) en Amalfi, Colombia. A-B, CBUCES-D 774; C-D, CBUCES-D 987; E-F espécimen no colectado (macho adulto). (Fotos A-B, Esteban Alzate; C-D, Esteban Garzón; E-F, Juan P. Durango).

**Figure 1.** General view and posterior coloration of the thighs of the individuals registered of *Leptodactylus rhodomerus* (A-D) and *Leptodactylus savagei* (E-F) in Amalfi, Colombia. A-B, CBUCES-D 774; C-D, CBUCES-D 987; E-F unvouchered specimen (adult male). (Photographs A-B, Esteban Alzate; C-D, Esteban Garzón; E-F, Juan P. Durango).



**Figura 2.** Mapa de la distribución actual de *Leptodactylus rhodomerus* para Colombia. Mostrando los registros previos que había para el país (puntos rojos), la localidad tipo (triángulo negro), los nuevos registros (estrella verde) y el registro más cercano de *Leptodactylus savagei* (triángulo amarillo) para la Cordillera Central de Colombia.

**Figure 2.** Actual distribution map of *Leptodactylus rhodomerus* for Colombia. Showing the previous records that existed for the country (red spots), the type locality (black triangle), the new records (green star) and the closest record of *Leptodactylus savagei* (yellow triangle) for the Cordillera Central of Colombia.

distributed throughout the Amazon basin in Brazil, Bolivia, Peru, French Guiana, Guyana, Venezuela and Colombia, being found in the latter throughout the lowlands of the Orinoco and Amazon (Heyer, 2005; Lynch, 2005; Lynch, 2006; de Sá et al., 2014); *L. lithonaetes*, which inhabits rocky outcrops in the

Colombian departments of Amazonas, Guainía, Vaupés, Vichada and in the Venezuelan states of Amazonas, Apure and Bolívar (de Sá et al., 2014); *L. pentadactylus*, which is distributed throughout the lowland tropical rainforests of the Amazon region and limits of the Orinoquía-Amazonía, being found in countries as Bolivia,

Brazil, Colombia, Ecuador, French Guiana, Guyana, Peru, Suriname and Venezuela (Heyer, 2005; Lynch, 2007; de Sá et al., 2014). *Leptodactylus rhodomystax*, which is distributed throughout the Amazon basin and the Guiana shield (de Sá et al., 2014); *L. rugosus*, inhabits the Amazon lowlands and southeastern region of the Orinoco basin, in Brazil, Guyana, Venezuela and Colombia, being found in the latter in the department of Guainía (de Sá et al., 2014; Caicedo-Portilla et al., 2022); *L. savagei*, which is distributed in Central America from Honduras to Panama and the northern coast of Colombia, inhabiting the lowland tropical rainforests of the Magdalena Valley and the Caribbean region (Heyer, 2005; de Sá et al., 2014), and *L. stenodema*, which inhabits throughout the lowland Amazon rainforest of Brazil, Colombia, Ecuador, Peru, French Guiana and Suriname (de Sá et al., 2014).

In particular, *L. rhodomerus* is widely distributed in northwestern Ecuador and across the Colombian Pacific lowlands, being reported in the latter in the departments of Antioquia (Heyer, 2005; Robledo & Urrutia, 2018), Chocó (Heyer, 2005; Burbano-Yandi et al., 2015), Nariño (Heyer, 2005; Pinto-Erazo et al., 2020) and Valle del Cauca (Vargas & Castro, 1999; Heyer, 2005), between 50-1,100 m a.s.l. (Fig. 2). Accordingly, to date, this species has only been reported for the western flank of the western cordillera, so the finding of these two individuals constitutes the first records of the species for the central cordillera, particularly in the eastern slopes towards the Magdalena River Valley, extending its distribution approximately 180 km in a straight line, from the nearest report in the western part of the municipality of Frontino, department of Antioquia (6.699083° N, 76.5605° W; 1,009 m a.s.l.) (Robledo & Urrutia, 2018), to the Cordillera Central, northeastern Antioquia.

Heyer (2005) states that for the north of its range *L. rhodomerus* has a parapatric distribution with respect to *L. savagei*, species with which it can be confused at first sight, but from which it differs by characters such as: Sexually active males of *L. rhodomerus* exhibit a small white or black thumb spines and lack chest spines, while *L. savagei* have a large black spine on each thumb and a pair of black chest spines. Also *L. rhodomerus* exhibits a bright reddish coloration on the posterior surfaces of the thighs in life (black coloration in life in *L. savagei*) (Fig. 1 A-F). On the other hand, and understanding that parapatry refers to a pattern in which the ranges of two species meet and form distribution margins with narrow contact zones in which the species can locally coexist (Bull, 1991), previously there weren't known areas where both *L. rhodomerus* and *L. savagei* could cohabit, even occupying the same niche and using similar resources (e.g. use of subterranean cavities as burrows). However, and as part of additional herpetofaunal inventories in the same area where the previously mentioned records were

made, the presence of individuals of *L. rhodomerus* and *L. savagei* inhabiting the same locality has been recognized (Durango-Cardona, pers. comm.) (Fig. 2), which raises questions about the possible segregation of niches that these species may exhibit in the area.

Furthermore, the record of *L. rhodomerus* in this area of the central cordillera, which is influenced by the Tumbes-Chocó Magdalena hotspot, supports the connectivity that exists between the Pacific region and the humid forests of the Magdalena Valley, which has also been previously supported by other authors (Lynch & Suárez, 2004; Acosta-Galvis et al., 2020; García-Cobos et al., 2020). Likewise, we believe that by increasing sampling efforts in this and other areas into the Magdalena Valley, additional species that historically have been recognized as unique to the Colombian Pacific will continue to be found, providing further support for the strong connectivity that exists throughout this region.

**Acknowledgements.**— We greatly appreciate the wonderful work done by Beatriz Machado and her brothers with the Arenas Blancas Nature Reserve, due to their great effort to conserve the forests of their property this project was able to go through. We thank CES University and the Faculty of Science and Biotechnology for all the support provided in the process. We thank the students of the Herpetology course at CES University for their support during the field trips to the reserve. We would also like to thank Juan Manuel Lozano Arias and Juan Pablo Durango and Laura Gómez whose comments enriched the final draft of the manuscript, and Juan Pablo Durango for providing the photos of *L. savagei*. Individuals were collected under the permit granted by the National Authority of Environmental Licensing (ANLA) 0790, resolution July 18, 2014.

## CITED LITERATURE

- Acosta-Galvis, A.R., D. García-Cobos, G. Cárdenas-Arévalo, A. Corrales-García & A. Paternina-Hernández. 2020. Geographic distribution extension of the Worm Salamander, *Oedipina complex* (Dunn, 1924), in the Magdalena Valley, Colombia. Check List 16:521-526.
- Bull, C. 1991. Ecology of parapatric distributions. Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics 22:19-36.
- Burbano-Yandi, C.E., W. Bolívar-García & A. Giraldo. 2015. Ensamblajes de anuros en tres zonas con intervención humana en el Parque Nacional Natural los Katíos (Colombia). Boletín



- Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural 19:157-170.
- Caicedo-Portilla, J.R., C. Durán-Prieto, F. Zabala-Forero, D.L. Gutiérrez-Lamus & M. Osorno-Muñoz. 2022. Los Reptiles y Anfibios del Departamento de Guainía. Pp. 165-177. En Usma-Oviedo J.S., F. Trujillo & L.G. Naranjo (Eds.). Diversidad biológica y cultural del departamento de Guainía. Gobernación de Guainía, WWF Colombia, Corporación para el Desarrollo Sostenible del Norte y el Oriente Amazónico - CDA & Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas SINCHI, Bogotá, Colombia.
- De Sá, R., T. Grant, A. Camargo, W.R. Heyer, M.L. Ponsa & E. Stanley. 2014. Systematics of the neotropical genus *Leptodactylus* Fitzinger, 1826 (Anura: Leptodactylidae): phylogeny, the relevance of non-molecular evidence, and species accounts. South American Journal of Herpetology 9:1-128.
- Frost, D.R. 2024. Amphibian Species of the World: An Online Reference. Version 6.2. at <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA [Consultado en febrero 2024].
- García-Cobos, D., A. Corrales-García, G. Cárdenas-Arévalo, A. Paternina-Hernández & A.R. Acosta-Galvis. 2020. First record of the goo-eater snake, *Geophis nigroalbus* Boulenger, 1908 (Serpentes, Dipsadidae), in the Magdalena Valley, Cordillera Oriental of Colombia. Check List 16:115-119.
- Heyer W.R. 1972. The status of *Leptodactylus pumilio* Boulenger (Amphibia, Leptodactylidae) and the description of a new species of *Leptodactylus* from Ecuador. Natural History Museum of Los Angeles County 231:1-8.
- Heyer, W.R. 1979. Systematics of the pentadactylus species group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia: Leptodactylidae). Smithsonian Contributions to Zoology 301:1-43.
- Heyer, W.R. 2005. Variation and taxonomic clarification of the large species of the *Leptodactylus pentadactylus* species group (Amphibia: Leptodactylidae) from Middle America, Northern South America, and Amazonia. Archivos de Zoología 37:269-348.
- Lynch, J.D. & A. Suárez-Mayorga. 2004. Catálogo de anfibios en el Chocó Biogeográfico. Pp. 654-668. En Rangel-Ch, J.O. (Ed.), Colombia Diversidad Biótica IV, El Chocó Biogeográfico, Costa Pacífica. Volumen I. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- Lynch, J.D. 2005. Discovery of the richest frog fauna in the World—an exploration of the forests to the north of Leticia. Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales 29:581-588.
- Lynch, J.D. 2006. The amphibian fauna in the Villavicencio region of eastern Colombia. Caldasia 28:135-155.
- Lynch, J.D. 2007. Anfibios Capítulo 2, Diversidad Biológica del sur de la Amazonía colombiana. Pp 595-600. En Ruiz S.L., E. Sánchez, E. Tabares, A. Prieto, J.C. Arias, R. Gómez, D. Castellanos, P. García & L. Rodríguez (Eds.). Diversidad biológica y cultural del sur de la Amazonia colombiana - Diagnóstico. Corpoamazonia, Instituto Humboldt, Instituto Sinchi, UAESPNN, Bogotá, Colombia.
- McDiarmid, R.W. 2006. Preparación de Anfibios como Especímenes Científicos. En Angulo, A., J.V. Rueda-Almonacid, J.V. Rodríguez-Mahecha & E. La Marca (Eds.). Técnicas de Inventario y Monitoreo para los Anfibios de la Región Tropical Andina. Conservación Internacional. Serie Manuales de Campo N°2. Panamericana Formas e Impresos S.A, Bogotá, Colombia.
- Moya-Robledo, J. & N.S. Urrutia. 2018. Caracterización de anfibios del Cerro de Chageradó, Frontino- Antioquia). Instituto de Investigaciones Ambientales del Pacífico John Von Neumann Versión 1.4. Colombia.
- Pinto-Eraza, M.A., M.L. Calderón-Espinosa, G.F. Medina-Rangel & M.A. Méndez-Galeano. 2020. Herpetofauna de dos municipios del suroeste de Colombia. Biota Colombiana 21:41-57.
- Pisani, G.R. 1973. A Guide to Preservation Techniques for Amphibians and Reptiles. Society for the Study of Amphibians and Reptiles. Herpetological Circular 1, Lawrence, Kansas, USA.
- Vargas, F. & F. Castro. 1999. Distribución y preferencias de microhabitat en anuros (Amphibia) en bosque maduro y áreas perturbadas de Anchicayá, Pacifico colombiano. Caldasia 21:95-108.



# THE SOUTHERNMOST RECORD OF THE ANTIOQUIA WEEVIL TOAD *RHINELLA TENREC* (ANURA: BUFONIDAE)

## EL REGISTRO MÁS MERIDIONAL DEL SAPO PICUDO DE ANTIOQUIA *RHINELLA TENREC* (ANURA: BUFONIDAE)

Luis Alberto Copete-Mosquera<sup>1,3\*</sup>, Josue Restrepo Montoya<sup>2</sup> & Alberto Sánchez-Vialas<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Herpetología, Facultad de Ciencias Naturales, Programa de Biología, Universidad Tecnológica del Chocó, Quibdó, Chocó, Colombia.

<sup>2</sup>Investigador independiente. Calle 5 #5-86, Carmen de Atrato, Chocó, Colombia.

<sup>3</sup>Museo Nacional de Ciencias Naturales (MNCN-CSIC), C/ José Gutiérrez Abascal, 2. 28006, Madrid, España.

\*Correspondence: [luiscope1@gmail.com](mailto:luiscope1@gmail.com)

Received: 2023-12-28. Accepted: 2024-06-10. Published: 2024-08-06.

Editor: Felipe Rabanal, Chile.

The remarkable species richness and high degree of endemism are some of the factors that have placed the Chocó ecoregion among the 25 most biodiverse areas in the world (Rangel-Ch, 2004; Arroyo et al., 2013; Sarria et al., 2015; Calderón, 2018). However, compared to other ecoregions, its biological knowledge is yet incipient (Echavarría et al., 2015; González et al., 2016; Noguera, 2016; Valois & Martínez, 2016; Echavarría et al., 2018; Meneses-Pelayo et al., 2018; Palacios-Rodríguez et al., 2018; Palacios-Mosquera et al., 2020; Copete-Mosquera et al., 2023).

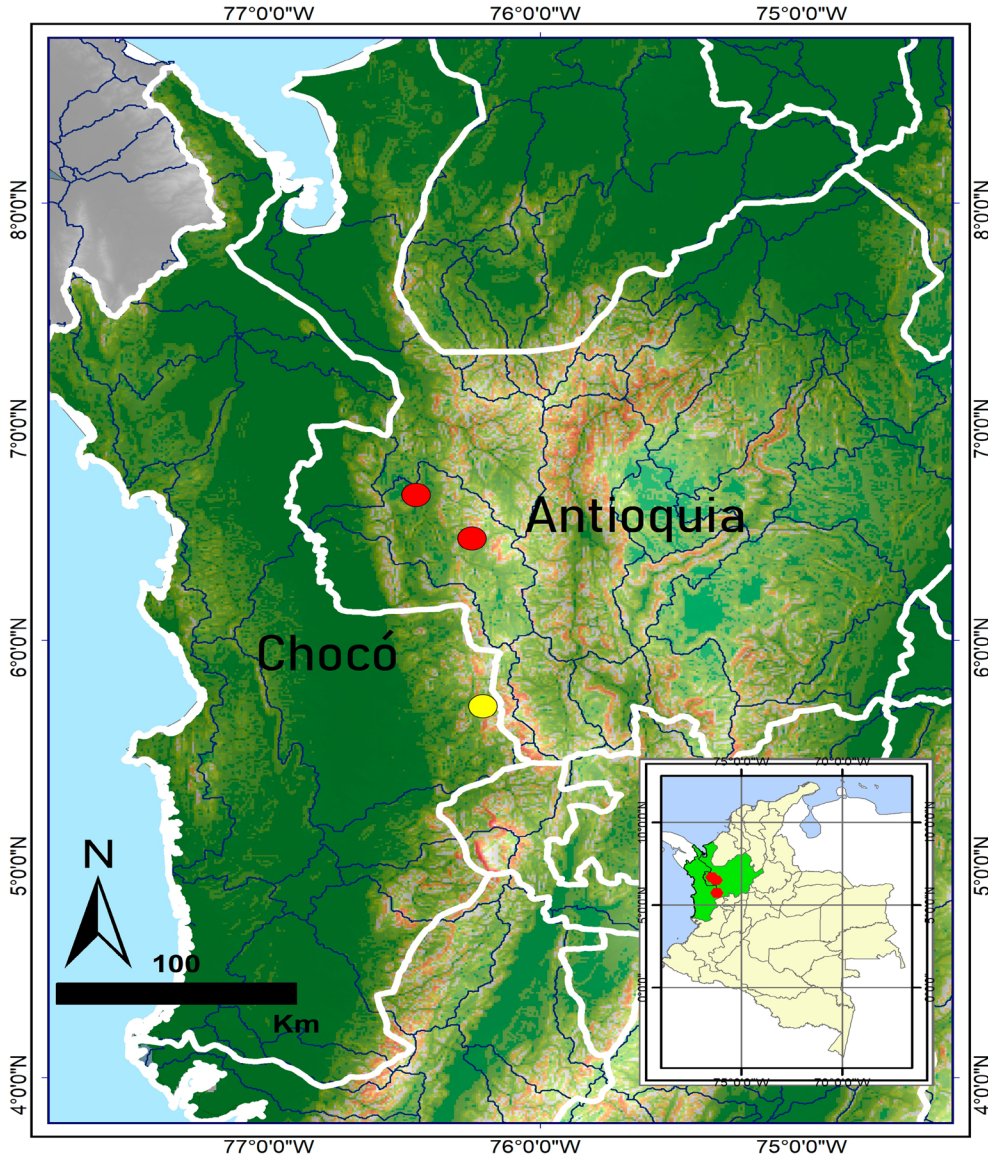
The genus *Rhinella* Fitzinger, 1826 currently comprises 97 species distributed in several species groups, which are widespread from North to South America (Frost, 2024). At present, the species group of *Rhinella festae* (Peracca, 1904) includes a total of 21 species distributed in Panama, Colombia, Ecuador, Peru, and Bolivia (Lehr et al., 2021; Acosta, 2023; Frost, 2024; Caicedo-Martínez et al., 2024). Out of these 21 species, fourteen are characterized by a distinctive morphological feature: a long snout ending in a prominent and relatively pointed snout, commonly referred to as a "shark-like snout".

Currently, the geographic range of some of these species are poorly known, and some of which are only known from a handful of localities. This is the case for *R. tenrec* (Lynch & Renjifo, 1990), a diurnal and semi-arboreal species known from two localities, the terra typica "near Campamento Ingeominas (ca. 6°42' N, 76°27' W), near the headwaters of Río Amparradó, Municipio Dabeiba, Departamento Antioquia, Colombia" (Lynch & Renjifo, 1990), and Parque Nacional las Orquídeas, Vereda Venados Arriba (Pereyra et al., 2021), both located in the Antioquia Department, Colombia, at an elevation range between 805 and 1,100 m a.s.l.

On the afternoon of 19<sup>th</sup> June 2022, a single subadult specimen (not collected) of a shark-like snout *Rhinella* was sighted in Guaduas, Carmen de Atrato, Chocó department, Colombia (5°44'03.220" N, 76°11'55.762" W) (Figure 1), at an elevation of 950 m a.s.l. The external morphological traits exhibited by the reported specimen (Fig 2A,B) are consistent with *Rhinella tenrec*: (1) long, protruding, anteriorly directed snout, (2) poorly developed cranial ornamentation, (3) reduced or absent supraorbital, postorbital, and supratympanic ridges, (4) absent tympanic ridge, (5) few tubercles on back, not conical, (6) row of dorsolateral tubercles from supratympanic ridge through parathyroid gland to groin, (7) fingers and toes webbed (Lynch & Renjifo, 1990).

*Rhinella tenrec* can be unambiguously distinguished from other geographically close species in the group. From *R. acrolopha* (Trueb, 1971) it can be readily differentiated by a longer and more pointed snout (shorter in *R. acrolopha*) and by fingers and toes more webbed (less webbed in *R. acrolopha*). From *R. truebae* (Lynch & Renjifo, 1990), it differs by the absence of tympanic and pre-tympanic crests and cranial ornamentation (crests and strong cranial ornamentation present in *R. truebae*). From *R. macrorrhina* (Trueb, 1971), it differs by the absence of marked cranial ornamentation (well-marked cranial ornamentation in *R. macrorrhina*). From *R. paraguas* Grant & Bolívar, 2014, it differs by lacking pre-tympanic crests and by having few non-conical dorsal tubercles (pre-tympanic crests and conical dorsal tubercles present in *R. paraguas*). *Rhinella tenrec* differs from *R. nicefori* (Cochran & Goin, 1970) by having a long protruding snout directed anteriorly (moderately short snout directed anteroventrally in *R. nicefori*) and by the presence of non-conical dorsal tubercles (large depressed scattered dorsal tubercles in





**Figura 1.** Mapa de Colombia indicando las localidades conocidas de *Rhinella tenrec*. Los iconos circulares rojos representan localidades previamente conocidas y el icono circular amarillo representa el nuevo registro.

**Figure 1.** Map of Colombia indicating the known localities of *Rhinella tenrec*. Red circular icons represent previous species records and the yellow circular icon represents the new record.

*R. nicefori*). From *R. lindae* (Rivero & Castaño, 1990) it differs by lacking a tympanic ring (tympanic ring present in *R. lindae*), by having a low occipital crest (absent in *R. lindae*), and by a long, protruding snout directed slightly downwards (snout directed anteriorly and slightly upwards in *R. lindae*).

The individual of *R. tenrec* was found in a forest patch, resting on the upper surface of a bush leaf, at around 25 cm above the forest floor. The area where it was located is characterized by fragmented forest surrounded by pasture fields (Figure 2C; CalPhoto IDs: 0000 0000 1223 0659; video: 10.6084/m9.figshare.24861426).

The presence of *R. tenrec* was known from two localities, 30 km apart from each other, in the Antioquia Department, Colombia (Pereyra et al., 2021; Frost, 2023). Our record extends 92 km southwards the known range of *R. tenrec* and represents the first record for the Chocó Department. The forest where the specimen was found is surrounded by pastures and crops. This environment exhibits a series of anthropic pressures, including: (1) pastures and crops; (2) small forest fragments; and (3) livestock activity (IDEAM, 2010) (Figure 3). This record suggests that the species may have a broader distribution than previously thought. The altitude where the newly recorded specimen was



**Figura 2.** Ejemplar registrado de *Rhinella tenrec* descansando sobre una hoja (A), vista lateral del mismo ejemplar (B), hábitat de *Rhinella tenrec* en Guaduas (C).

**Figure 2.** The recorded specimen of *Rhinella tenrec* resting on a leaf (A), lateral view of the same specimen (B), habitat of *Rhinella tenrec* in Guaduas (C).

found (905 m a.s.l.) falls within the documented altitudinal gradient of the species.

*Rhinella tenrec* is classified as endangered due to ongoing habitat alterations within its limited extent of occurrence (IUCN, 2017). Considering the singular nature of this discovery in a restricted forest enclave threatened by grazing pastures, we strongly suggest implementing immediate conservation measures to safeguard this isolated population. This note underscores the incipient state of our knowledge concerning this species group of *Rhinella*, emphasizing the necessity for extensive fieldwork efforts focused on the detection of these rare amphibians.

**Acknowledgements.**— We would like to express our gratitude to Sara Gonzalez and Norma Andrade for their patience and enthusiasm in proofreading the English version. We also extend

our thanks to David Velásquez and Juan Moreira for their valuable feedback on the initial draft of the manuscript. Additionally, we thank the editor and reviewers for their invaluable advice in finalizing the manuscript.

## CITED LITERATURE

Acosta-Galvis, A.R. 2023. Lista de los Anfibios de Colombia: Referencia en línea V.13.2023. Página web accesible en <http://www.batrachia.com>; Batrachia, Villa de Leyva, Boyacá, Colombia. [Consulted in April 2024].

Arroyo-Valencia, J.E., L.C. Pardo-Locarno & M. González Anaya. 2013. Fragmentación de hábitats en el Chocó Biogeográfico Colombiano: Marco conceptual, contexto regional y paradigmas desde la ecología del paisaje. *Sabia Revista científica* 2:10-24.



**Figura 3.** Panorámica general de la zona de avistamiento de *Rhinella tenrec*, bosque fragmentado con pastos y cultivos.

**Figure 3.** General view of the *Rhinella tenrec* sighting area, fragmented forest with pastures and crops.

- Asprilla-Aguilar, A.A., A.M. Jiménez-Ortega & H. Mantilla-Meluk. 2016. Murciélagos (Chiroptera) del departamento del Chocó, occidente colombiano. *Biodiversidad Neotropical* 6:188-211.
- Caicedo-Martínez, L.S., J.J. Henao-Osorio, H.F. Arias-Monsalve, J.A. Rojas-Orales, P.A. Ossa-López, F.A. Rivera-Páez & H.E. Ramírez-Chaves. 2024. A new species of terrestrial toad of the *Rhinella festae* group (Anura, Bufonidae) from the highlands of the Central Cordillera of the Andes of Colombia. *ZooKeys* 1196:149-175.
- Calderón, K.I. 2018. Crónicas de viaje al Chocó. Tesis de Doctorado. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- Chaparro, J.C., J.B. Pramuk & A.G. Gluesenkamp. 2007. A new species of arboreal *Rhinella* (Anura: Bufonidae) from cloud forest of southeastern Peru. *Herpetológica* 63:203-212.
- Copete-Mosquera, L.A., L.E. Rentería-Moreno & A.S. Vialas. 2023. Range extension of *Andinobates altobueyensis* (Anura: Dendrobatidae): the southernmost species record. *Herpetology Notes* 16:583-585.
- Cusi, J.C., J. Moravec, E. Lehr & V. Gvoždik. 2017. A new species of semiarborescent toad of the *Rhinella festae* group (Anura, Bufonidae) from the Cordillera Azul National Park, Peru. *ZooKeys* 673:21-47.
- Duellman, W.E. 1999. Patterns of Distribution of Amphibians: A Global Perspective. John Hopkins University Press, Baltimore, Maryland, USA.
- Duellman, W.E. & J.D. Lynch. 1988. Anuran amphibians from the Cordillera de Cutucu, Ecuador. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 140:125-142.
- Duellman, W.E. & R. Schulte. 1992. Description of a new species of *Bufo* from northern Peru with comments on phenetic groups of South American toads (Anura: Bufonidae). *Copeia* 1992:162-172.

- Echavarría-Rentería, J.D., V. Mosquera-Moya & J.T. Rengifo-Mosquera. 2015. Ampliación del rango de distribución de *Atractus depressiocellus* Myers, 2003 (Serpentes: Dipsadidae) para Colombia. Cuadernos de Herpetología 29:157-159.
- Echavarría-Rentería, J.D., E. Meneses, A.M. Jiménez, L. Palacios & J.T. Rengifo. 2018. Nuevos registros y estado actual de la distribución de *Imantodes inornatus* Boulenger, 1896 (Serpentes: Dipsadidae) en Colombia. Revista Colombiana de Ciencia Animal 10:25-30.
- Frost, D.R. 2024. Amphibian Species of the World: An Online Reference. Version 6.2. Electronic Database accessible at <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA. doi.org/10.5531/db.vz.0001 [Consulted in April 2024].
- González-Córdoba, M., M. del Carmen, M. Mosquera-Murillo & S.P. Sánchez-Vásquez. 2016. Riqueza y distribución de Elmidae (Insecta: Coleoptera: Byrrhoidea) en el departamento del Chocó, Colombia. Intropica 85-95.
- Grant, T. & W. Bolívar-G. 2014. A new species of semiarboreal toad with a salamander-like ear (Anura: Bufonidae: *Rhinella*). Herpetologica 70:198-210.
- IDEAM, 2010. Leyenda Nacional de Coberturas de la Tierra. Metodología CORINE Land Cover adaptada para Colombia Escala 1:100.000. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales. Bogotá, Colombia.
- IUCN SSC Amphibian Specialist Group. 2017. *Rhinella tenrec*. The IUCN Red List of Threatened Species 2017: e.T54883A85876499. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-2.RLTS.T54883A85876499.en>. [Consulted in April 2024].
- Lehr, E., J.C. Cusi, L.O. Rodríguez, P.J. Venegas, L.A. García-Ayachi & A. Catenazzi. 2021. A New Species of Toad (Anura: Bufonidae: *Rhinella*) from Northern Peru. Taxonomy 1:210-225.
- Lynch, J.D. & J.M. Renjifo. 1990. Two new toads (Bufonidae: *Rhamphophryne*) from the northern Andes of Colombia. Journal of Herpetology 364-371.
- Meneses-Pelayo, E., J.D. Echavarría-Rentería, J.D. Bayona-Serrano, J.R. Caicedo-Portilla & J.T. Rengifo-Mosquera. 2018. Anfibios y Reptiles de Colombia. Anfibios y Reptiles 4:70-77.
- Noguera, E. 2016. Mastozoología en Nariño y algunos comentarios sobre la biogeografía de la región. Revista de Ciencias 7:1-18.
- Palacios-Mosquera, L., J. Quinto-Mosquera, J.D. Echavarría-Rentería, A.M. Jiménez-Ortega, L.A. Moreno-Amud & P. Velazco. 2020. New record of *Centronycteris centralis* Thomas, 1912 (Chiroptera: Emballonuridae) from the Chocó Biogeographic Region, with an updated distribution map. Bat Research & Conservation 13:34-37.
- Palacios-Rodríguez, L.J., J.T. Rengifo-Mosquera, M. Roa-Panesso & Y. Palacios-Asprilla. 2018. Riqueza y distribución de hílidos (Hylidae: Anura) en zona de bosques pluvial tropical en el departamento del Chocó, Colombia. Revista Colombiana de Ciencia Animal 10:154-166.
- Pereyra, M.O., B.L. Blotto, D. Baldo, J.C. Chaparro, S.R. Ron, A.J. Elias-Costa, P.P. Iglesias, P.J. Venegas, M.T.C. Thomé, J.J. Ospina-Sarria, N.M. Maciel, M. Rada, F. Kolenc, C. Borteiro, M. Rivera-Correa, F.J.M. Rojas-Runjaic, J. Moravec, I. De la Riva, W.C. Wheeler, S. Castroviejo-Fisher, T. Grant, C.F.B. Haddad & J. Faivovich. 2021. Evolution in the genus *Rhinella*: A total evidence phylogenetic analysis of Neotropical True Toads (Anura: Bufonidae). Bulletin of the American Museum of Natural History 447:1-156.
- Rangel-Ch., J.O. 2004. Amenazas a la biota y a los ecosistemas del Chocó biogeográfico. In Rangel-Ch., J.O. (Ed.). Colombia Diversidad Biótica IV. El Chocó Biogeográfico/Costa Pacífica. Instituto de Ciencias Naturales, Bogotá, Colombia.
- Sarria, J.J., D.A. Velasquez & W. Bolívar-G. 2015. First records of two poorly known terrarana frogs: *Pristimantis esmeraldas* (Guayasamin 2004) and *Strabomantis necerus* (Lynch 1975) (Anura: Amphibia: Craugastoridae) in the Pacific lowlands from Colombia. Herpetology Notes 8:27-30.
- Valois-Cuesta, H. & C. Martínez-Ruiz. 2016. Vulnerabilidad de los bosques naturales en el Chocó biogeográfico colombiano: actividad minera y conservación de la biodiversidad. Bosque Valdivia 37:295-305.



# APROXIMACIONES GENÓMICAS Y SU UTILIDAD EN LA IDENTIFICACIÓN DE GENES INVOLUCRADOS EN ADAPTACIÓN LOCAL EN ECTOTERMOS, CON ÉNFASIS EN HERPETOFAUNA

GENOMIC APPROACHES AND THEIR USEFULNESS IN THE IDENTIFICATION OF GENES INVOLVED IN LOCAL ADAPTATIONS IN ECTOTHERMS, WITH AN EMPHASIS ON HERPETOFAUNA

Luis Pastenes<sup>1\*</sup>, Marcela Salazar-Viedma<sup>2,3</sup>, Alejandro Zúñiga<sup>4,5</sup> & Marta Fuentealba<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Genética y Microevolución, Departamento de Biología y Química, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Católica del Maule. Avenida San Miguel #3605, Talca, Chile.

<sup>2</sup>Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile. Cinco Poniente #1670, Talca, Chile.

<sup>3</sup>Departamento de Genética y Ecología Molecular, Fundación Biota Integra. Vilches Alto, km 67 s/n, San Clemente, Chile.

<sup>4</sup>Departamento de Ciencias Químicas y Biológicas, Universidad Bernardo O'Higgins. General Gana #1702, Santiago, Chile.

<sup>5</sup>Instituto de Ciencias Naturales, Universidad de Las Américas. Manuel Montt #948, Santiago, Chile.

\*Correspondence: [lpastenes@ucm.cl](mailto:lpastenes@ucm.cl)

Received: 2024-03-11. Accepted: 2024-05-10. Published: 2024-08-06.

Editor: Irene Goyenechea Mayer-Goyenechea, México.

Uno de los desafíos de la biología evolutiva es comprender los procesos y mecanismos de la adaptación local. Kawecki y Ebert (2004) definen la adaptación local como “*El cambio genético que ocurre en una población en respuesta a una presión selectiva localizada geográficamente*” (Cuadro 1). En este sentido, los estudios de adaptación local aportan información trascendente acerca del poder de la selección natural sobre el flujo génico y otros mecanismos evolutivos, pero además, permiten evaluar hipótesis evolutivas acerca de los rasgos que son favorecidos por factores ambientales específicos.

Los ambientes naturales son a menudo heterogéneos, aunque una condición ambiental local persistente puede imponer selección divergente, por lo que las poblaciones desarrollarán diferencias en sus características fenotípicas, proporcionando una mayor adecuación biológica (*fitness*) bajo esos entornos particulares. De este modo, la adaptación local suele ser estudiada en organismos que exhiben diferencias fenotípicas en ambientes específicos, es decir, en poblaciones que exhiben variación geográfica (Whitman & Ananthakrishnan, 2009; Barrett & Hoekstra, 2011). En ectotermos, por ejemplo, la temperatura ha sido descrita como un factor determinante asociado con la

adaptación local, por lo que se espera encontrar diferencias en los rasgos de historia de vida (Cuadro 2) de poblaciones que viven en ambientes que contrastan térmicamente (Laurila et al., 2002; Méndez & Correa-Solis, 2009; Terribile et al., 2009; Grorud-Colvert & Sponaugle, 2011; Orizaola et al., 2013; por mencionar algunos).

Ahora bien, numerosos estudios han evaluado adaptación local en ambientes particulares, no obstante, los fundamentos genéticos que subyacen a tal respuesta adaptativa aún no se han dilucidado. Por ende, se hace necesario identificar aquellos mecanismos genéticos que determinan este tipo de respuesta y, de esta manera, comenzar a develar una serie de interrogantes evolutivas (e.g. ¿Cuántos genes influyen en estas respuestas? ¿Cuáles son sus tamaños de efectos relativos y cuáles muestran evidencia de evolución no-neutral? ¿Qué agentes evolutivos mantienen la variación en esos *loci*? ¿Ambientes similares favorecen a los mismos genes, o es posible lograr un fenotipo similar con diferentes mecanismos genéticos?). Para avanzar en estas respuestas, un requisito previo es poder identificar los genes que influyen en los rasgos de importancia evolutiva. Además, estas preguntas deben ser respondidas en un número



## Cuadro 1: Adaptación local

La heterogeneidad ambiental, a lo largo de la distribución geográfica de las especies, ejercería presiones selectivas que actuarían para maximizar el *fitness* individual dentro de ambientes específicos (Kawecki & Ebert, 2004). Este proceso se conoce como adaptación local, en el cual individuos de una población local exhiben un *fitness* mayor en su ambiente local, comparado con individuos de una población y ambiente diferentes. Entonces, se argumenta que la selección puede estar contrarrestada por el flujo génico o hacerse menos eficiente por la deriva genética, que las extinciones y recolonizaciones frecuentes pueden obstaculizar el proceso hacia la adaptación local, y que la intensidad o la dirección de la selección en relación a la heterogeneidad ambiental pueden variar temporalmente, favoreciendo a genotipos generalistas y/o a la plasticidad fenotípica en la adaptación local *per-se* (Fraser et al., 2011).

Las condiciones necesarias para que se verifique adaptación local (Kawecki & Ebert, 2004) incluyen: i) flujo génico bajo (de baja dispersión o de alta fidelidad de hábitat), ii) una ventana de variación temporal mayor en la selección, y iii) fluctuaciones pequeñas o insignificantes en la calidad del hábitat y/o donde existan costos o restricciones a la plasticidad. Para estos autores, los criterios a establecer para evidenciar adaptación local son los siguientes:

1. Las poblaciones deben exhibir *fitness* diferentes a través de ambientes diversos.
2. Una población debe exhibir un *fitness* mayor en su ambiente local (o bajo condiciones experimentales parecidas a aquellas del ambiente local) comparado con poblaciones foráneas en el mismo ambiente (criterio "local vs. foráneo").
3. Se debe evidenciar que las diferencias de *fitness* entre las poblaciones tienen una base hereditaria; mientras que los efectos maternos, la plasticidad fenotípica, los efectos de la experiencia previa y los artefactos experimentales deben ser descartados o controlados.

**Box 1.** Brief explanation of the concept "local adaptation".

**Cuadro 1.** Cuadro explicativo del concepto "adaptación local".

de organismos que incluyan y se extiendan más allá de los organismos modelo tradicionales, representando así a diversos grupos taxonómicos y distintas historias de vida evolutivas.

En las últimas dos décadas, la accesibilidad a recursos genéticos, tecnologías moleculares de alto rendimiento y enfoques analíticos diversos, han permitido identificar genes

implicados en las bases genéticas de la adaptación local en las poblaciones naturales, direccionando así el estudio de los mecanismos de selección natural (Savolainen et al., 2013; Hoban et al., 2016). En este sentido, Stapley et al. (2010) señalan que durante la búsqueda de genes candidatos, los esfuerzos se deben centrar en el estudio de un conjunto de genes que se sabe están involucrados en una vía que afectan el fenotipo.

## Cuadro 2: Rasgos de historia de vida

Según Stearns & Hoekstra (2005), los rasgos de historia de vida son aquellos atributos que están directamente asociados con la reproducción y la supervivencia, incluyendo el tamaño de la cría (o el tamaño a la metamorfosis, en el caso de artrópodos y anfibios), la tasa de crecimiento, la edad y el tamaño a la madurez, el número de descendencia, la frecuencia de reproducción y el período de vida.

Un concepto importante en biología evolutiva es que los rasgos de historia de vida son los componentes principales del *fitness*. El término *fitness* es una abreviatura para “éxito reproductivo”, sin embargo, esta no es una definición muy precisa. Stearns & Hoekstra (2005) lo definen como “el éxito relativo en la vida reproductiva, que incluye la probabilidad de sobrevivir para reproducirse”. Esto implica que un rasgo heredable es favorecido por la selección natural si los individuos que portan ese rasgo tienen un *fitness* promedio superior (o, si se quiere, un éxito reproductivo mayor) que individuos sin ese rasgo (para más detalles ver Stearns, 2000).

**Box 2.** Brief explanation of the concept “life history traits”.

**Cuadro 2.** Cuadro explicativo del concepto “rasgos de historia de vida”.

Posteriormente, la secuenciación del gen (o de los genes) en individuos con fenotipos divergentes permitirá identificar mutaciones asociadas con variación adaptativa. Esto significa que sólo será posible proponer genes candidatos de selección en un subconjunto de genes que muestren cambios evolutivos en su expresión génica. Por ello, un enfoque útil en el estudio de los mecanismos genéticos de adaptación en organismos no-modelo, para los que secuencias del genoma completo no están disponibles, consiste en emplear conjuntamente distintas técnicas genómicas para la identificación de genes candidatos de selección.

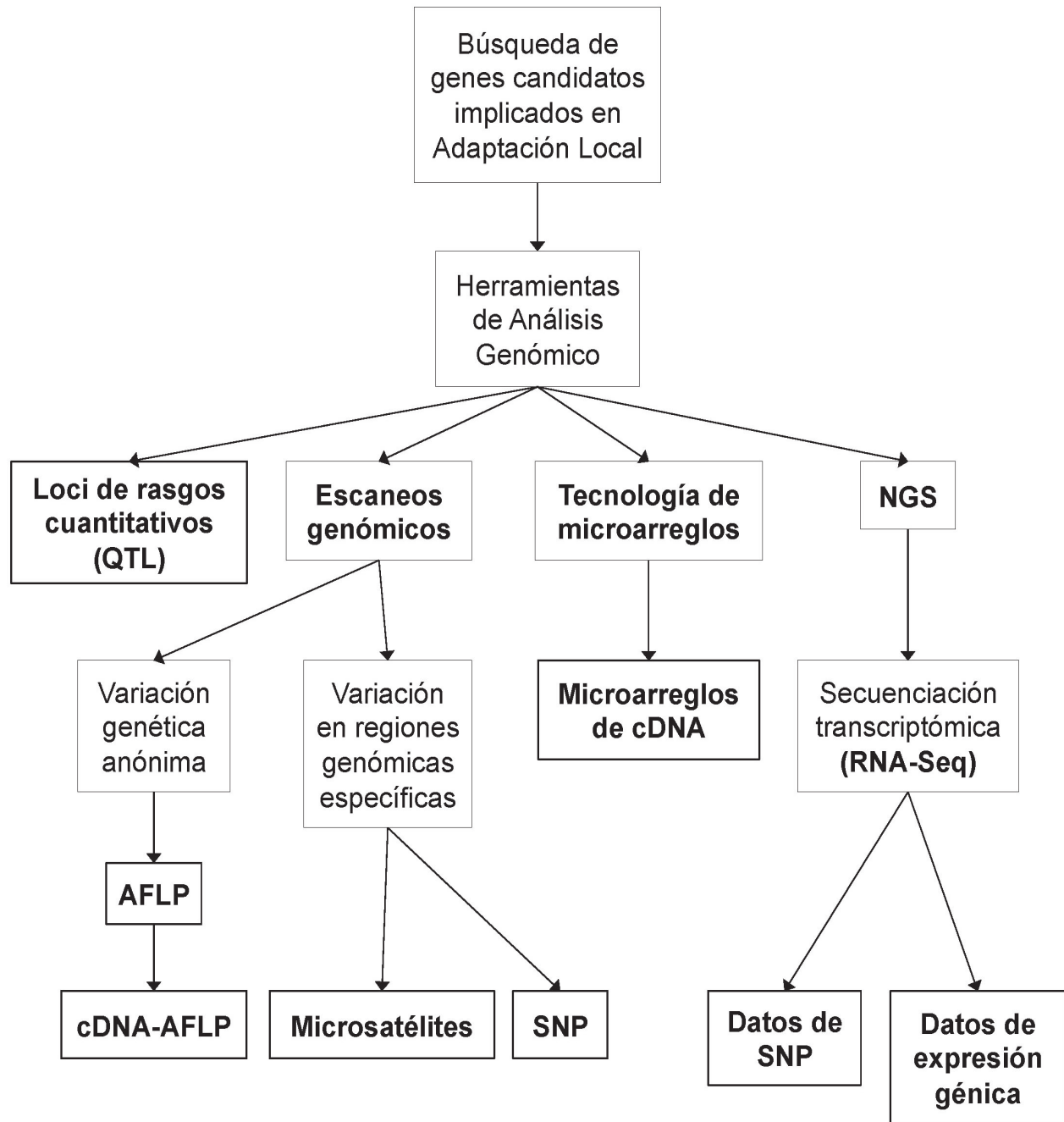
Dado que experimentamos un acelerado cambio climático, preocupa que las poblaciones adaptadas localmente no puedan adaptarse a estas nuevas condiciones, o bien, que los organismos no tengan la capacidad de migrar a otros lugares donde sortear este clima cambiante y, en consecuencia, no sobrevivan o prosperen en las nuevas condiciones ambientales (Merilä & Hendry, 2014). En este sentido, las herramientas genómicas pueden ayudarnos a evaluar estas inquietudes, permitiéndonos contribuir al desarrollo de estrategias de mitigación en aras de preservar poblaciones, especies, interacciones entre especies y ecosistemas (ver Gracey & Cossins, 2003; Lee & Mitchell-Olds, 2006; Savolainen et al., 2013). Por consiguiente, en este ensayo buscamos exponer el avance de la investigación en genómica

evolutiva, centrándonos en aquellos reportes que muestran evidencia de genes candidatos que permiten evaluar adaptación local en organismos ectotermos no-modelo, con énfasis en herpetozoos.

Por otro lado, no pretendemos profundizar en los fundamentos moleculares que subyacen a las distintas técnicas genómicas existentes (Fig. 1), sino más bien, abordarlas desde el punto de vista de su utilidad concreta en la identificación de genes candidatos de selección para indagar en las causas y los mecanismos de la adaptación local. No obstante, si el lector desea ahondar en detalles técnicos sobre estas aproximaciones genómicas, sugerimos revisar la literatura específica clásica asociada a cada herramienta molecular comentada.

### LOCÍ DE RASGOS CUANTITATIVOS (QTL).

Los rasgos cuantitativos son atributos que están bajo control poligénico y que a menudo muestran variación entre o dentro de poblaciones de manera continua (ver Erickson et al., 2004). Se considera que la evolución de atributos importantes que representan evolución adaptativa (e.g. rasgos conductuales, morfológicos o de historia de vida) reflejan la evolución de muchos *loci*. Por ende, resulta interesante examinar las bases genéticas de estos caracteres, incluyendo el número de genes que



**Figure 1.** Genomic analysis paths to identify candidate genes for selection (e.g. candidate genes for local adaptation). AFLP, amplified fragment length polymorphisms; cDNA, complementary DNA; NGS, next generation sequencing (e.g. high-throughput sequencing); SNP, single nucleotide polymorphisms; RNA-Seq, RNA sequencing.

**Figura 1.** Rutas de análisis genómico para la identificación de genes candidatos de selección (e.g. genes candidatos de adaptación local). AFLP, polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados; cDNA, ADN complementario; NGS, secuenciación de próxima generación (e.g. secuenciación masiva); SNP, polimorfismos de nucleótido simple; RNA-Seq, secuenciación de ARN..



afectan a rasgos complejos, los efectos relativos de estos genes y sus modos de expresión génica, que como un todo constituyen la arquitectura genética de los organismos (Liu et al., 2001; Corre & Kremer, 2012).

Los avances tecnológicos en el área de marcadores moleculares y el desarrollo paralelo de programas para el análisis combinado de datos genéticos y fenotípicos, han permitido la aplicación de los QTL en diversos estudios ecológicos y evolutivos. Por ejemplo, Palomar et al. (2019) realizaron un mapeo de QTL para la segregación de rasgos de historia de vida en *Rana temporaria*. El resultado permitió detectar nueve QTL (tres son significativos) para rasgos tales como tasa metabólica, tasa de crecimiento, tiempo de desarrollo y peso en la metamorfosis. Además, el estudio develó regiones genómicas que afectan rasgos de historia de vida en las larvas de anuros, proporcionando de esta manera un recurso valioso para profundizar en las bases genómicas de la evolución de los anfibios.

## MARCADORES CONVENCIONALES PARA ESCANEOS GENÓMICOS (AFLP, MICROSATÉLITES Y SNP)

La aplicación de marcadores genéticos tradicionales cubre dos categorías generales: 1) marcadores que detectan variación genética anónima, y 2) marcadores que identifican variación genética en segmentos específicos del genoma. Los primeros incluyen: i) amplificación azarosa de ADN polimórfico (RAPD); ii) polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados (AFLP); y iii) polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción (RFLP). La segunda comprende: iv) análisis de sitios de restricción en *loci* específicos de genomas mitocondriales (ADNmt) y cloroplásticos (ADNcp) o en genes nucleares específicos; v) microsatélites en secuencias no-codificantes específicas; y vi) polimorfismos de nucleótido simple (SNP) con variación a lo largo de todo el genoma (e.g. regiones codificantes y no-codificantes, microsatélites, ADNmt y ADNcp). Revisaremos aquellos de más amplio uso en estudios evolutivos.

### Polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados (AFLP)

Técnica relativamente barata, fácil, rápida, confiable y de alta resolución que permite generar cientos de marcadores genéticos informativos (ver Vos et al., 1995; Mueller & Wolfenbarger, 1999; Meudt & Clarke, 2007). La característica clave es su capacidad para examinar simultáneamente muchas regiones diferentes del ADN, distribuidas aleatoriamente a través del genoma. Los AFLP muestran ser útiles en la evaluación de diferencias genéticas entre individuos, entre poblaciones e independientemente entre linajes evolutivos, tales como especies (Mattersdorfer et al.,

2012). Su principal desventaja es la dificultad en la identificación de marcadores homólogos (alelos), haciéndola menos útil en estudios que requieren la asignación precisa de estados alélicos (e.g. análisis de heterocigosidad) (Bonin, 2008). Un método alternativo derivado es el ADNc-AFLP, el cual permite el análisis de transcriptomas y no requiere datos previos de secuencias de ADN. Esta técnica, utilizada exitosamente en muchos organismos diferentes (ver Ouborg & Vriezen, 2007), logra determinar de manera precisa los perfiles de expresión génica debido al análisis cuantitativo de las intensidades de las bandas amplificadas. Asimismo, permite la detección de genes escasamente expresados y la determinación de diferencias sutiles en la actividad transcripcional, haciendo factible estudiar cambios evolutivos a nivel de expresión génica y permitiendo encontrar y examinar posibles genes candidatos involucrados en la adaptación local.

Esta aproximación genómica resulta ser relevante, pues ha permitido estudiar el impacto del cambio climático en la biodiversidad, actuando como una herramienta útil al definir políticas de conservación y manejo de poblaciones. En este sentido, Milá et al. (2010) utilizaron marcadores AFLP para examinar la estructura genético-poblacional del tritón *Calotriton asper* en cuatro arroyos principales de los Pirineos franceses. La variación en 382 *loci* AFLP fue alta y reveló un patrón claro de aislamiento por distancia, consistente con la restricción a largo plazo del flujo génico en tres escalas espaciales: entre los cuatro arroyos principales, entre sitios dentro de los arroyos, y entre poblaciones adyacentes (separadas por <4 km). Más recientemente, Han et al. (2018) emplearon AFLP de ADNmt para investigar la estructura genético-poblacional del pez *Ammodytes personatus*, el cual se distribuye en diferentes corrientes del Pacífico noroccidental. Los resultados mostraron que *A. personatus* está compuesto por al menos dos especies crípticas divergentes, las cuales se aislaron probablemente en dos eventos durante el Pleistoceno, y en la actualidad poseen un patrón geográfico de distribución característico, exhibiendo adaptaciones locales para enfrentar diferentes condiciones térmicas en estas corrientes oceánicas.

**Microsatélites:** Estos marcadores son conocidos como repeticiones de secuencia simple (SSR) o repeticiones en tándem cortas (STR). Consisten en motivos de uno a seis nucleótidos repetidos varias veces que tienen un comportamiento mutacional característico (ver Schlotterer & Tautz, 1992; Kelkar et al., 2010). Como consecuencia de sus elevadas tasas de mutación, los SSR son típica y altamente polimórficos, es decir, distintos individuos exhiben variación manifestada como diferencias en el número de repeticiones (Guichoux et al., 2011). Sus ventajas sobre los

SNP (los cuales tienden a ser usados cada vez más) incluyen alta diversidad alélica y relativa facilidad de transferencia metodológica entre especies cercanamente relacionadas. En sus inicios, los SSR mostraron algunos inconvenientes tales como una fase de desarrollo larga y costosa, y un rendimiento relativamente bajo debido a las dificultades de automatización y manejo de datos, especialmente cuando se comparan con los SNP (Guichoux et al., 2011). Sin embargo, la aparición de tecnologías de secuenciación masiva ha permitido que la identificación de SSR sea más barata y rápida. Además, la co-amplificación de múltiples microsátelites en un cóctel único de PCR (e.g. *multiplex*) es mucho más fácil, dado que los productos de múltiples reacciones de amplificación pueden ser combinados en una sola corrida de electroforesis capilar (e.g. *pseudo-multiplexing* o *pool-plexing*) (ver Ghislain et al., 2004).

Utilizando este marcador, Percino-Daniel et al. (2016) estudiaron la diversidad genética de cinco poblaciones de salamandras del género *Ambystoma* en lagos de la Cuenca Oriental de México. Una de las hipótesis fue probar si las poblaciones de dos lagos salobres de esta cuenca muestran flujo genético restringido, posiblemente como resultado de una adaptación local a esos microhábitats. Los resultados mostraron que el intercambio genético entre lagos salobres y de agua dulce es insignificante, a pesar del flujo continuo de genes entre lagos de agua dulce, por lo que la evolución de la pedomorfosis en *Ambystoma taylori* probablemente fue favorecida por la adaptación local a condiciones salinas, aumentando así su aislamiento genético. Por otra parte, Shimada et al. (2011) examinaron genes fisiológicamente importantes en el pez *Gasterosteus aculeatus*, los cuales exhiben respuestas transcripcionales en ambientes particulares o en condiciones de desarrollo específicas. Empleando marcadores microsátelites localizados dentro de o cercanamente ligados a genes candidatos, evaluaron la posibilidad de que estos genes hayan estado sujetos a selección direccional y sean responsables de la adaptación local que evidencian algunas poblaciones de esta especie. De todos los loci estudiados, 21 son candidatos de selección direccional (v.g., genes de respuesta térmica), indicando fuertes presiones selectivas en genes fisiológicamente importantes, lo cual sugiere que poseen funciones significativas en la adaptación evolutiva a la heterogeneidad ambiental.

*Polimorfismos de nucleótido simple (SNP)*: Son marcadores atractivos por muchas razones, tales como la disponibilidad de altos números de SNP anotados, tasas de error con bajos puntajes, la relativa facilidad de calibración entre laboratorios (comparados con marcadores basados en longitud) y la capacidad asociada entre laboratorios para reunir conjuntos de datos temporales

y espaciales combinados (ver Garvin et al., 2010). Además, su potencial de genotipado masivo, un modelo de mutación simple y su capacidad de examinar tanto la variación neutral como las regiones bajo selección, ofrecen en los SNP un alcance sin precedentes para la detección amplia de genomas y muestras poblacionales naturales de gran tamaño (ver Helyar et al., 2011).

Al respecto, Jin et al. (2022) examinaron la diferenciación genética del anuro *Microhyla fissipes* a lo largo de clinas geográficas, con el fin de identificar señales de selección direccional que cambian geográficamente con la variación de la temperatura y la precipitación. Los resultados revelaron una diferenciación genética significativa entre poblaciones, detectándose numerosos SNP *outliers* asociados con la variación tanto en la temperatura promedio anual (69 SNP) como en la precipitación (248 SNP). En otra arista, Takeuchi et al. (2019) estudiaron la variación genética del molusco *Pinctada fucata* de 24 poblaciones que se distribuyen entre Japón, China, islas Nansei, Birmania y Cambodia. Se concluyó que existe variabilidad genética efectiva entre las poblaciones, particularmente en dos de ellas (encontraron 66 *loci* correspondientes a 42 secuencias codificantes), y que esta variabilidad se correlaciona con variables ambientales, siendo la temperatura de la superficie marina y la concentración de oxígeno significativas, e indicando que existe adaptación local a condiciones ambientales particulares.

### Tecnología de microarreglos (*microarrays*)

Es ampliamente aceptado que la variación en la expresión génica tiene grandes consecuencias funcionales y es un componente importante para la adaptación ambiental en las poblaciones naturales (Oleksiak et al., 2002). Los microarreglos, cuando se emplean en conjunto con técnicas genéticas clásicas y la bioinformática, surgen como una herramienta importante en la generación de datos de expresión génica (ver Schena et al., 1995). Actualmente, existen varias maneras de distribuir sondas de ácidos nucleicos (e.g. marcadas con fluoróforos) en una densidad alta para la exploración de muestras de ARNm etiquetadas. Las dos tecnologías de uso más común son los microarreglos de ADNc (ver Gibson, 2002) y las matrices de oligonucleótidos de expresión (ver Lockhart et al., 1996; Gibson, 2002), pero sólo la primera es generalmente aplicable a organismos no-modelo, pues requiere que sólo una biblioteca grande de ADNc esté disponible como fuente de clones para ser sembrados. Sin embargo, una desventaja de esta tecnología es que presenta un acotado rango dinámico de aplicación, pues no permite detectar y analizar genes con baja expresión, isoformas (variantes por *splicing*) o transcritos desconocidos (Bumgarner, 2013).

Al respecto, Larsen et al. (2008) aplicaron microarreglos de ADNc para estudiar las diferencias de expresión de cuatro genes involucrados en la osmorregulación y estrés de dos poblaciones del lenguado *Platichthys flesus* que se distribuyen en un gradiente de salinidad natural en los mares del Norte y del Báltico. Aunque los genes asociados a los procesos osmorregulatorios se muestran altamente plásticos, se detectó una sobre-expresión de seis veces para el gen *hsp70* en individuos del Mar del Norte, así como diferencias de expresión significativas para el gen *5-aminolevulinato sintasa* en respuesta a diferentes salinidades entre individuos del Norte y del Báltico. Estos resultados sugieren que la expresión génica en los lenguados estaría influenciada por la adaptación a condiciones ambientales locales. Empleando esta misma aproximación, Czypionka et al. (2018) examinaron las causas de la expresión diferencial de 2.800 genes en larvas de *Salamandra salamandra* que habitan arroyos permanentes y estanques efímeros de un bosque de Alemania y cuyos regímenes térmicos difieren notablemente. Los experimentos de temperatura controlada revelaron que el 28% de la divergencia en la expresión genética observada entre las muestras podría atribuirse a la plasticidad relacionada con la temperatura del agua y que los patrones de expresión de sólo un pequeño número de 101 genes se vieron afectados por el genotipo. Estos resultados serían evidencia de que los factores genéticos determinaron la divergencia en la expresión genética entre los ecotipos de estanques y arroyos, pudiendo estar involucrados en la evolución adaptativa de esta especie.

### Tecnología de secuenciación masiva (o de alto rendimiento)

La secuenciación de próxima generación (NGS) ha transformado la capacidad de identificar genes que sustentan la adaptación. Según Stapley et al. (2010), la aplicación de esta herramienta genómica en diversas “especies ecológicas modelo” como *Arabidopsis lyrata*, *Heliconius melpomene*, *Littorina saxatilis*, *Coregonus* spp, *Salvelinus namaycush* y *Gasterosteus aculeatus*, permitirá abordar algunas de las preguntas que han intrigado a biólogos evolucionistas durante décadas (v.g., ¿Cuántos genes están involucrados en la adaptación? ¿Qué tipos de variación genética son responsables de la adaptación? ¿La adaptación utiliza la variación genética pre-existente o requiere nuevas mutaciones que surgen seguidas de un cambio ambiental?).

La NGS comprende varias tecnologías diferentes que poseen su propio conjunto de características (e.g. Roche 454®, ABI SOLiD®, Illumina/Solexa®, Ion Torrent® Systems, SMRT® PacBio, Oxford Nanopore® Technologies; para detalles ver Reuter et al., 2015). Un atributo destacado de las tecnologías NGS es que generan enormes cantidades de datos de secuencias a través de las aproximaciones genómica o transcriptómica. En esta última,

ADNc es producido a partir de ARNm desde un tejido o etapa de vida específicos, para luego construir bibliotecas de ADNc y proceder con la secuenciación transcriptómica (e.g. *RNA-Sequencing* o *RNA-Seq*). Los ensayos RNA-Seq son muy versátiles, ya que permiten un rango más amplio de aplicaciones (Stark et al., 2019). Al respecto, dos estrategias importantes son: i) El estudio de la expresión diferencial de genes (análisis similar al de los microarreglos), donde se busca detectar diferencias de expresión genética producto de condiciones o tratamientos contrastantes; y ii) el ensamble transcriptómico *de novo*, cuyo objetivo es generar transcriptomas de referencia para organismos no-modelo (de los cuales no existe información disponible en las bases de datos genéticas públicas) de manera rápida y a un costo no muy alto.

En lo que respecta a estudios de especiación ecológica, se han utilizado escaneos genómicos amplios para indagar en la asociación entre aislamiento poblacional y especiación. Por ejemplo, Singhal et al. (2022) condujeron un análisis *ddRAD-Seq* en Illumina HiSeq 4000 para estudiar la relación entre el aislamiento poblacional y la tasa de especiación de varias especies del orden Squamata (e.g. lagartos y serpientes) muestreadas en el extenso bioma Neotropical sudamericano. La cuantificación de la estructura genómica poblacional en el conjunto de taxa co-distribuidos mostró que los patrones de formación de especies a gran escala están desacoplados de los procesos demográficos y genéticos que promueven la formación de poblaciones aisladas, sugiriendo que la variabilidad interespecífica en la propensión al aislamiento tiene poca influencia en las tasas de especiación de esos taxa.

En el caso de la tecnología *RNA-Seq*, Pastenes et al. (2017) indagaron en las bases genéticas de la adaptación local térmica en una población del sapo andino *Rhinella spinulosa* que habita en los arroyos geotérmicos de El Tatio, Chile, comparándola con otra población que habita en arroyos de agua fría. Larvas de ambas poblaciones fueron expuestas a temperaturas contrastantes (25 vs. 20 °C). Esta comparación evidenció 194.469 SNP, 1.507 genes bajos selección positiva y 1.593 genes diferencialmente expresados. La búsqueda bioinformática para genes candidatos reveló un total de 70 genes implicados en la respuesta adaptativa de la población del hábitat geotérmico, la cual también evidencia disminución de la plasticidad transcripcional y variación genética reducida. En otro estudio, Campbell-Staton et al. (2018) investigaron los cambios de expresión génica del lagarto *Anolis carolinensis* al ser expuesto a condiciones térmicas contrastantes. Se indagó en los mecanismos adaptativos de tolerancia térmica de lagartos provenientes de diferentes poblaciones en un transecto latitudinal, midiendo su tolerancia al frío, la tasa

metabólica, el tamaño del corazón y la concentración sanguínea de lactato. Los resultados mostraron que la tolerancia al frío depende en parte de la zona geográfica de origen. Lagartos de zonas más templadas poseen plasticidad adaptativa mayor a la esperada si son expuestos a un periodo de aclimatación, contrario a lo que pasa con otros lagartos de este género.

## CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

A pesar de la numerosa evidencia de adaptación local en diversos taxones (e.g. vertebrados e invertebrados, e incluso plantas), las bases genéticas que subyacen a esta respuesta adaptativa aún no se han develado por completo. Las herramientas moleculares disponibles para la exploración de genomas o transcriptomas completos permiten localizar genes involucrados en la variación del *fitness* y en los mecanismos de adaptación, utilizando a especies silvestres como organismos no-modelo. Además, estas tecnologías reforzarán los estudios genómicos a nivel poblacional, evolutivo y de conservación, facilitando el análisis simultáneo de un gran número de genes a lo largo de todo el genoma, conduciendo así a la identificación de *loci outliers* involucrados en selección, los cuales llamaremos blancos genéticos o “genes candidatos de selección”.

El enfoque más apropiado para el estudio de los mecanismos genéticos de adaptación en organismos no-modelo, para los que secuencias del genoma completo no están disponibles, consiste en utilizar conjuntamente distintas técnicas genómicas para la identificación de genes candidatos de selección. Estas aproximaciones han sido empleadas con éxito en la identificación de genes candidatos de adaptación local en diversos organismos ectotermos. Además, los estudios genómicos en especies no-modelo se ha favorecido al existir recursos genómicos disponibles para una especie relacionada (e.g. especie de referencia genómica). Actualmente, el incremento en el número de proyectos de secuenciación de genomas completos significará que los llamados organismos ecológicos modelo alcanzarán el *status* de “modelo genético”, pudiendo conducir estudios genómicos en las áreas de ecología, evolución y conservación.

## LITERATURA CITADA

Barrett, R. & H. Hoekstra. 2011. Molecular spandrels: tests of adaptation at the genetic level. *Nature Reviews Genetics* 12:767-780.

Bonin, A. 2008. Population genomics: a new generation of genome scans to bridge the gap with functional genomics. *Molecular Ecology* 17:3583-3584.

Bumgarner, R. 2013. Overview of DNA microarrays: types, applications, and their future. *Current Protocols in Molecular Biology* 101:22.1.1-22.1.11.

Campbell-Staton, S.C., A. Bare, J.B. Losos, S.V. Edwards & Z.A. Cheviron. 2018. Physiological and regulatory underpinnings of geographic variation in reptilian cold tolerance across a latitudinal cline. *Molecular Ecology* 27:2243-2255.

Corre, V.L. & A. Kremer. 2012. The genetic differentiation at quantitative trait loci under local adaptation. *Molecular Ecology* 21:1548-1566.

Czypionka, T., D.J. Goedbloed, S. Steinfartz & A.W. Nolte. 2018. Plasticity and evolutionary divergence in gene expression associated with alternative habitat use in larvae of the European Fire Salamander. *Molecular Ecology* 27:2698-2713.

Erickson, D.L., C.B. Fenster, H.K. StenØien & D. Price. 2004. Quantitative trait locus analyses and the study of evolutionary process. *Molecular Ecology* 13:2505-2522.

Fraser, D.J., L.K. Weir, L. Bernatchez, M.M. Hansen & E.B. Taylor. 2011. Extent and scale of local adaptation in salmonid fishes: review and meta-analysis. *Heredity* 106:404-420.

Garvin, M.R., K. Saitoh & A.J. Gharrett. 2010. Application of single nucleotide polymorphisms to non-model species: a technical review. *Molecular Ecology Resources* 10:915-934.

Gibson, G. 2002. Microarrays in ecology and evolution: a preview. *Molecular Ecology* 11:17-24.

Gracey, A.Y. & A.R. Cossins. 2003. Application of microarray technology in environmental and comparative physiology. *Annual Review of Physiology* 65:231-259.

Grorud-Colvert, K. & S. Sponaugle. 2011. Variability in water temperature affects trait-mediated survival of a newly settled coral reef fish. *Oecologia* 165:675-686.

Guichoux, E., L. Lagache, S. Wagner, P. Chaumeil, P. Léger, O. Lepais, C. Lepoittevin, T. Malausa, E. Revardel, F. Salin & R.J. Petit. 2011. Current trends in microsatellite genotyping. *Molecular Ecology Resources* 11:591-611.



- Han, Z., Z. Wang, T. Gao, T. Yanagimoto & K. Iida. 2018. Assessing the Speciation of a Cold Water Species, Japanese Sand Lance *Ammodytes personatus*, in the Northwestern Pacific by AFLP Markers. *Animals* 8:224-240.
- Helyar, S.J., J. Hemmer-Hansen, D. Bekkevold, M.I. Taylor, R. Ogden, M.T. Limborg, A. Cariani, G.E. Maes, E. Diopere, G.R. Carvalho & E.E. Nielsen. 2011. Application of SNPs for population genetics of non-model organisms: new opportunities and challenges. *Molecular Ecology Resources* 11(s1):123-136.
- Hoban, S., J.L. Kelley, K.E. Lotterhos, M.F. Antolin, G. Bradburd, D.B. Lowry, M.L. Poss, L.K. Reed, A. Storfer & M. Whitlock. 2016. Finding the genomic basis of local adaptation: Pitfalls, practical solutions, and future directions. *The American Naturalist* 188:379-397.
- Jin, L., W.B. Liao & J. Merilä. 2022. Genomic evidence for adaptive differentiation among *Microhyla fissipes* populations: Implications for conservation. *Diversity and Distributions* 28:2665-2680.
- Kawecki, T.J. & D. Ebert. 2004. Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters* 7:1225-1241.
- Kelkar, Y.D., N. Strubczewski, S.E. Hile, F. Chiaromonte, K.A. Eckert & K.D. Makova. 2010. What is a microsatellite: a computational and experimental definition based upon repeat mutational behavior at A/T and GT/AC repeats. *Genome Biology and Evolution* 2:620-635.
- Larsen, P.F., E.E. Nielsen, T.D. Williams & V. Loeschcke. 2008. Intraspecific variation in expression of candidate genes for osmoregulation, heme biosynthesis and stress resistance suggests local adaptation in European flounder (*Platichthys flesus*). *Heredity* 101:247-259.
- Laurila, A., S. Karttunen & J. Merilä. 2002. Adaptive phenotypic plasticity and genetics of larval life histories in two *Rana temporaria* populations. *Evolution* 56:617-627.
- Lee, C.E. & T. Mitchell-Olds. 2006. Preface to the special issue: ecological and evolutionary genomics of populations in nature. *Molecular Ecology* 15:1193-1196.
- Liu, H.C., H.H. Cheng, V. Tirunagaru, L. Sofer & J. Burnside. 2001. A strategy to identify positional candidate genes conferring Marek's disease resistance by integrating DNA microarrays and genetic mapping. *Animal Genetics* 32:351-359.
- Lockhart, D.J., H. Dong, M.C. Byrne, M.T. Follettie, M.V. Gallo, M.S. Chee, M. Mittmann, C. Wang, M. Kobayashi, H. Norton & E.L. Brown. 1996. Expression monitoring by hybridization to high-density oligonucleotide arrays. *Nature Biotechnology* 14:1675-1680.
- Mattersdorfer, K., S. Koblmüller & K.M. Sefc. 2012. AFLP genome scans suggest divergent selection on colour patterning in allopatric colour morphs of a cichlid fish. *Molecular Ecology* 21:3531-3544.
- Méndez, M.A. & M. Correa-Solis. 2009. Divergence in morphometric and life history traits in two thermally contrasting Andean populations of *Rhinella spinulosa* (Anura: Bufonidae). *Journal of Thermal Biology* 34:342-347.
- Merilä, J. & A.P. Hendry. 2014. Climate change, adaptation, and phenotypic plasticity: the problem and the evidence. *Evolutionary Applications* 7:1-14.
- Meudt, H.M. & A.C. Clarke. 2007. Almost Forgotten or Latest Practice? AFLP Applications, Analyses and Advances. *Trends in Plant Science* 12:106-117.
- Milá, B., S. Carranza, O. Guillaume & J. Clobert. 2010. Marked genetic structuring and extreme dispersal limitation in the Pyrenean brook newt *Calotriton asper* (Amphibia: Salamandridae) revealed by genome-wide AFLP but not mtDNA. *Molecular Ecology* 19:108-120.
- Mueller, U.G. & L.L. Wolfenbarger. 1999. AFLP genotyping and fingerprinting. *Trends in Ecology & Evolution* 14:389-394.
- Oleksiak, M.F., G.A. Churchill & D.L. Crawford. 2002. Variation in gene expression within and among natural populations. *Nature Genetics* 32:261-266.
- Orizaola, G., E. Dahl, A. Nicieza & A. Laurila. 2013. Larval life history and anti-predator strategies are affected by breeding phenology in an amphibian. *Oecologia* 171:873-881.
- Ouborg, N.J. & W.H. Vriezen. 2007. An ecologist's guide to ecogenomics. *Journal of Ecology* 95:8-16.
- Palomar, G., A. Vasemägi, F. Ahmad, A. Nicieza & J.M. Cano. 2019. Mapping of quantitative trait loci for life history traits segregating within common frog populations. *Heredity* 122:800-808.



- Pastenes, L., C. Valdivieso, A. Di Genova, D. Travisany, A. Hart, M. Montecino, A. Orellana, M. Gonzalez, R.A. Gutiérrez, M. Allende, A. Maass & M.A. Méndez. 2017. Global gene expression analysis provides insight into local adaptation to geothermal streams in tadpoles of the Andean toad *Rhinella spinulosa*. *Scientific Reports* 7:1-10.
- Percino-Daniel, R., E. Recuero, E. Vásquez-Domínguez, K.R. Zamudio & G. Parra-Olea. 2016. All grown-up and nowhere to go: paedomorphosis and local adaptation in *Ambystoma* salamanders in the Cuenca Oriental of Mexico. *Biological Journal of the Linnean Society* 118:582-597.
- Raeymaekers, J.A.M., J.K.J. Van Houdt, M.H.D. Larmuseau, S. Geldof & F.A.M. Volckaert. 2007. Divergent selection as revealed by P(ST) and QTL-based F(ST) in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) populations along a coastal-inland gradient. *Molecular Ecology* 16:891-905.
- Reuter, J.A., D.V. Spacek & M.P. Snyder. 2015. High-throughput sequencing technologies. *Molecular Cell* 58:586-597.
- Savolainen, O., M. Lascoux & J. Merilä. 2013. Ecological genomics of local adaptation. *Nature Reviews Genetics* 14:807-820.
- Schena, M., D. Shalon, R.W. Davis & P.O. Brown. 1995. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 270:467-470.
- Schlötterer, C. & D. Tautz. 1992. Slippage synthesis of simple sequence DNA. *Nucleic Acids Research* 20:211-215.
- Shimada, Y., T. Shikano & J. Merilä. 2011. A high incidence of selection on physiologically important genes in the Three-spined Stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Molecular Biology and Evolution* 28:181-193.
- Singhal, S., G.R. Colli, M.R. Grundler, G.C. Costa, I. Prates & D.L. Rabosky. 2022. No link between population isolation and speciation rate in squamate reptiles. *PNAS* 119:e2113388119.
- Stapley, J., J. Reger, P.G. Feulner, C. Smadja, J. Galindo, R. Ekblom, C. Bennison, A.D. Ball, A.P. Beckerman & J. Slate. 2010. Adaptation genomics: the next generation. *Trends in Ecology & Evolution* 25:705-712.
- Stark, R., M. Grzelak & J. Hadfield. 2019. RNA sequencing: the teenage years. *Nature Reviews Genetics* 20:631-656.
- Stearns, S.C. 2000. Life history evolution: successes, limitations, and prospects. *Naturwissenschaften* 87:476-486.
- Stearns, S.C. & R.F. Hoekstra. 2005. *Evolution: An introduction*. 2nd edition. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Takeuchi, T., T. Masaoka, H. Aoki, R. Koyanagi, M. Fujie & N. Satoh. 2020. Divergent northern and southern populations and demographic history of the pearl oyster in the western Pacific revealed with genomic SNPs. *Evolutionary Applications* 13:837-853.
- Terribile, L.C., M.A. Olalla-Tárraga, J.A.F. Diniz-Filho & M.A. Rodríguez. 2009. Ecological and evolutionary components of body size: geographic variation of venomous snakes at the global scale. *Biological Journal of the Linnean Society* 98:94-109.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijmans, T. van de Lee, M. Hornes, A. Friters, J. Pot, J. Paleman, M. Kuiper & M. Zabeau. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23:4407-4414.
- Whitman, D.W. & A.A. Agrawal. 2009. What is phenotypic plasticity and why is it important? p.1-63. En D.W. Whitman & T.N. Ananthkrishnan (Eds.). *Phenotypic Plasticity of Insects: Mechanisms and Consequences*. CRC Press, Enfield, New Hampshire, USA.



# PRIMEROS REGISTROS Y ESTADO ACTUAL DE *BOANA PICTURATA* (HYLIDAE) PARA EL DEPARTAMENTO DEL CHOCÓ, COLOMBIA

## FIRST RECORDS AND CURRENT STATUS OF *BOANA PICTURATA* (HYLIDAE) FOR THE DEPARTMENT OF CHOCÓ, COLOMBIA

Lucellis Maria Rivas Albornoz<sup>1,\*</sup>, Jhon Tailor Rengifo Mosquera<sup>1</sup>, Lizeth Johana Palacios Rodriguez<sup>1</sup> & Mayra Yulenis Rengifo Palacios<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Herpetología. Universidad Tecnológica del Chocó Diego Luis Córdoba, Quibdó, Chocó, Colombia.

\*Correspondence: [rivaslucelly10@gmail.com](mailto:rivaslucelly10@gmail.com)

Received: 2024-03-21. Accepted: 2024-05-30. Published: 2024-08-07.

Editor: Sean Rovito, México.

*Boana* (Gray, 1825), es el segundo género neotropical más rico de la familia Hylidae, compuesto por 99 especies reconocidas y distribuidas por todo el Neotrópico, desde Nicaragua hasta Argentina (Frost, 2024; Faivovich et al., 2021). Colombia tiene 25 especies de *Boana* en casi todo el país, mayormente en las tierras bajas (Acosta Galvis, 2023). Las especies que componen este género son de hábitos arbustivos o arborícolas, y están asociadas a vegetación rraparía y cuerpos de agua temporales.

*Boana picturata* (Boulenger, 1899), es una rana de tamaño mediano a grande (longitud hocico-cloaca, machos 48.9 mm y hembras 66.2 mm), descrita por Boulenger con base a un solo ejemplar procedente de Paramba, provincia Imbabura, Ecuador. Esta especie tiene actividad nocturna y hábitos terrestres, encontrándose en bosques primarios y secundarios, cerca de cuerpos de agua. Su distribución ha sido reportada en las tierras bajas del noroccidente de Ecuador y del Pacífico colombiano. En Colombia, se ha registrado en los departamentos de Antioquia, Cauca, Nariño y Valle del Cauca (Lynch & Suárez, 2004; Duellman, 1974; Sturaro et al., 2020; Duellman, 1974; Acosta, 2000; Faivovich et al., 2006; Sturaro, et al., 2020; Vargas & Bolaños, 1999; Vargas & Castro, 1999; Castro & Vargas, 2008) entre los 0-1,100 m s.n.m.

Durante la búsqueda de herpetofauna en el Departamento del Chocó, Colombia, se registraron seis individuos de la especie *Boana picturata*. Para la colecta de los individuos, se realizaron varias salidas de campo, en el horario comprendido de 20:00 h a 0:00 h, aplicando el método VES (visual encounter survey, en inglés), que es una técnica utilizada en el monitoreo de anfibios (Crump & Scott, 1994), donde se exploran los diferentes hábitats y microhábitats que ofrece el ecosistema, sin tener en cuenta ningún modelo sistemático. El sacrificio de los ejemplares se

realizó *in situ*, por inmersión en una solución de cloretona al 10 %, mientras la fijación se realizó en cámaras húmedas con formalina al 10%, para luego ser transportados a la Colección de Referencia Zoológica - Herpetología de la Universidad Tecnológica del Chocó (COLZOOCH-CH), donde se realizó su conservación y se corroboró su taxonomía. Para la identificación taxonómica de esta especie, se revisaron los trabajos de Faivovich et al. (2005), Grant et al. (2006), Bolivar et al. (2004), además de realizar una revisión del material presente en la colección, con el objetivo de encontrar comparaciones o diferencias con material ya identificado.

Aquí presentamos la ampliación de distribución de *B. picturata* para el Chocó, sumando tres nuevas localidades reportadas para esta especie en Colombia (Tabla 1). El nuevo registro para el Departamento del Chocó extiende de 193 km al registro más cercano reportado en el Departamento de Antioquia.

El primer registro de esta especie se llevó a cabo en Abril del 2004, en el municipio de Nuquí (5.69930° N, 77.24996° W) a los 45 m s.n.m. El ejemplar (COLZOOCH-H 0797) se encontraba vocalizando sobre una rama en un bosque secundario. El segundo registro, se llevó a cabo en marzo del 2005 en la quebrada el Afirmado, (5. 64194° N, 77.07550° W) a los 310 m s.n.m ubicada en el municipio del Alto Baudó, aquí se registraron dos individuos que fueron capturados durante las horas de la noche en un bosque en generación (COLZOOCH-H 0833- COLZOOCH-H 0838). El tercer registro fue en Noviembre del 2011, en la Vereda de Angostura (5.326667° N, 76.444722° W), a los 75 m s.n.m ubicado en el municipio de Tadó, al momento de la captura el ejemplar (COLZOOCH-H 1756) se encontraba en un bosque secundario sobre una rama.

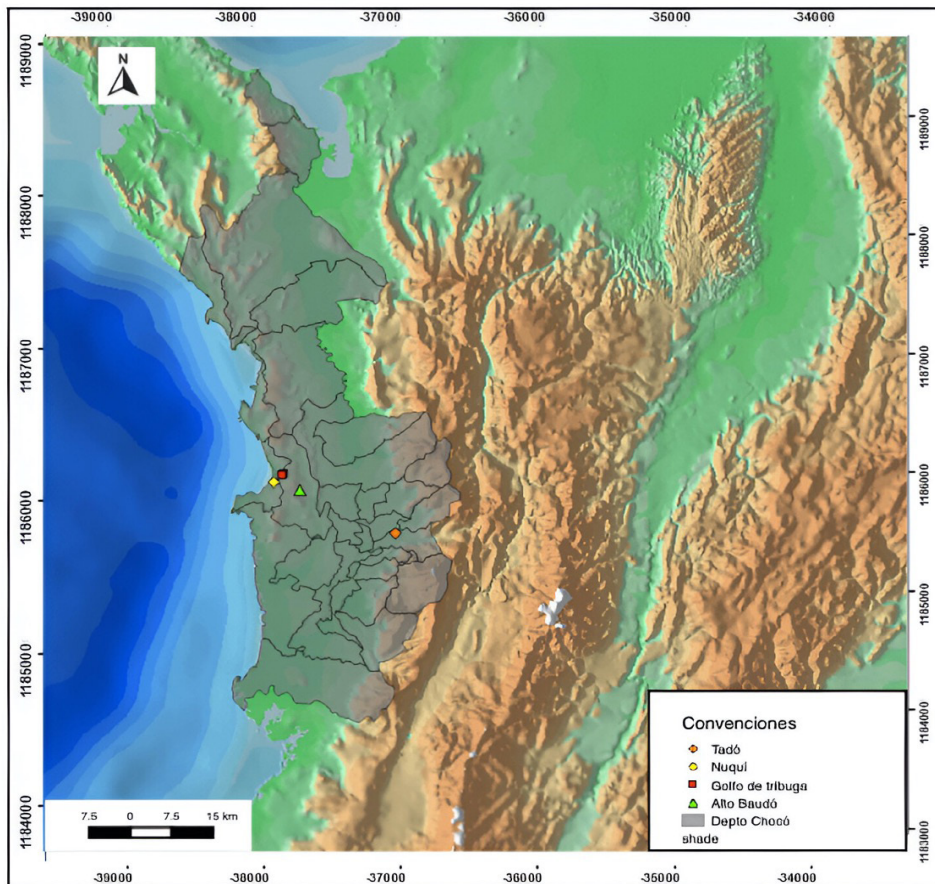
Voucher	Municipio de la Localidad	Coordenadas	M s.n.m	L-RC
ColZooCh-H: 0797	Nuquí	5.69930° N, 77.24996° W	53	60.6 mm
ColZooCh-H: 0833	Alto Baudó	5.64194° N, 77.07550° W	310	40.7 mm
ColZooCh-H: 0838	Alto Baudó	5.64194° N, 77.07550° W	310	50.2 mm
ColZooCh-H: 1796	Tadó	5.32667° N, 76.44472° W	75	60.5 mm
ColZooCh-H: 3580	Golfo de Tribugá	5.764888° N, 77.192527° W	312	60.2 mm
ColZooCh-H: 3384	Golfo de Tribugá	5.75388° N, 77.20055° W	62	40.7 mm

**Tabla 1.** Localidades de *Boana picturata* en el Departamento del Chocó.

**Table 1.** Localities of *Boana picturata* in the Department of Chocó.

El cuarto y más reciente registro, corresponde a dos ejemplares capturados durante la ejecución del proyecto Expediciones Biológica, realizada en junio del 2020 en el Golfo de Tribugá (5.764888° N, 77.192527° W, a los 312 m s.n.m (COLZOOCH-H 2284) y (5.753888° N, 77.200555° W a los 62 m

s.n.m (COLZOOCH-H 3579) ubicado en el municipio de Nuquí, costa Pacífica de Colombia (Figura 1). Al momento de la captura, los dos ejemplares estaban en un bosque secundario sobre ramas cerca de una quebrada.



**Figure 1.** Geographic location of *Boana picturata* in the Department of Chocó, Colombia.

**Figura 1.** Ubicación geográfica de *Boana picturata* en el Departamento del Chocó, Colombia.





**Figure 2.** *Boana picturata* in life (COLZOOCH-H 3579), recorded in Tribugá, Department of Chocó, Colombia. Photo: Serranía del Baudó Biological Expedition.

**Figura 2.** *Boana picturata* en vida (COLZOOCH-H 3579), registro realizado en Tribugá, Departamento del Chocó, Colombia. Foto: Expedición Biológica Serranía del Baudó.



**Figure 3.** Morphs of *Boana picturata* individuals recorded in the Department of Chocó, Colombia. Individuals (Colzooch-h 0833, 0838, 3384) Males and (Colzooch-h 0797, 1756, 3597) Females.

**Figura 3.** Morfos de los individuos de *Boana picturata* registrados en el Departamento del Chocó, Colombia. Individuos (Colzooch-h 0833, 0838, 3384) Machos y (Colzooch-h 0797, 1756, 3597) Hembras.

Los individuos aquí registrados, presentan la combinación de los siguientes caracteres: ojos extremadamente grandes, pupila elíptica y horizontal, iris amarillo bordeado de negro, hocico truncado, narinas prominentes, dorso liso, vientre ligeramente granular. Su coloración dorsal es variable, algunos presentan un color de fondo café rojizo con marcas redondeadas amarillas y otros tienen el dorso café oscuro con marcas marrón; los flancos, el vientre y el mentón no tienen un diseño en particular y son de color crema o amarillo pálido (Figuras 2 y 3).

Según la lista roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN), esta especie se encuentra en la categoría de Preocupación Menor (LC). No obstante, sus poblaciones podrían verse afectadas por el desarrollo de actividades antropogénicas como la minería, la cual es muy desarrollada en el Departamento del Chocó; por lo tanto, la información aquí proporcionada ayuda a la elaboración de planes de conservación a partir de la selección de áreas donde habita esta especie o al monitoreo de sus poblaciones y al conocimiento de su historia natural.

**Agradecimientos.-** A la Comunidad de Tribugá (Nuqui), a los consejos Comunitarios Mayores de los Riscales (Nuqui) y ACABA (Baudó), por hacer parte del proyecto, a las Instituciones aliadas (Instituto de Investigaciones Ambientales del Pacífico (IIAP), Instituto de Investigaciones de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt (Instituto Humboldt), Universidad Tecnológica del Chocó Diego Luis Córdoba, al Ministerio de Ciencias, Tecnología e Innovación (MinCiencias) en su fondo Francisco José de Caldas por la financiación de las Expediciones Biológicas y Fortalecimiento a las Colecciones. Los ejemplares aquí reportados fueron capturados con el permiso de Colecta científica otorgado por la entidad de CODECHOCÓ a la Universidad Tecnológica del Chocó, bajo la resolución 1601 del 2015 y previa autorización para Colección Herpetológica con el código COL0086617.

## LITERATURA CITADA

- Acosta Galvis, A.R. 2023. Lista de los Anfibios de Colombia: Referencia en línea V.13.2023 (9 mayo 2024). Pagina web accesible en <http://www.batrachia.com>; Batrachia, Villa de Leyva, Boyacá, Colombia.
- Bolivar, W., L.A. Coloma, S.R. Ron & D.F. Cisneros-Heredia. 2004. *Hypsiboas picturatus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2004:e.T55604A11335597.
- Castro-Herrera, F. & F. Vargas-Salinas. 2008. Anfibios y reptiles en el departamento del Valle del Cauca, Colombia. *Biota Colombiana* 2:251-277.
- Crump, M. & N. Scott. 1994. Visual encounter surveys Págs. 80-87. En: Heyer RW, Donnelly M, McDiarmis R, Hayek L, Foster M. (eds), *Measuring and Monitoring, Biological Diversity: Standard methods for amphibians*. Smithsonian institution Press, Washington DC, USA.
- Duellman, W.E. & J.E. Simmons. 1974. A new species of *Eleutherodactylus* (Anura: Leptodactylidae) from the Cordillera Oriental of Colombia. *Proceedings of the Biological Society of Washington* 1:60-65.
- Faivovich, J., F.B. Haddad, C.O. Garcia, D.R. Frost, J.A. Campbell & W.C. Wheeler. 2005. Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylinae: Phylogenetic analysis and taxonomic revision. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 294:1-240.
- Faivovich, J., J. Moravec, D.F. Cisneros-Heredia & J. Köhler. 2006. A new species of the *Hypsiboas benitezi* group from the western Amazon Basin (Amphibia: Anura: Hylidae). *Herpetologica* 62:96-108.
- Faivovich, J., P. Pinheiro, L. Pereyra, D. Baldo, A. Muñoz, S. Reichle, R. Brandão, A. Giaretta, C. Tereza, J. Chaparro, D. Baêta, R. Libardi, J. Baldo, E. Lehr, W. Wheeler, P. Garcia & C.F. Haddad. 2021. Phylogenetic relationships of the *Boana pulchella* Group (Anura: Hylidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 155:1-18.
- Frost, D.R. 2024. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.2 (Date of access). Electronic Database accessible at <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA. [Consultada en mayo 2024].
- Grant, T., Frost, D.R., Caldwell, J.P, Gagliardo, R., Haddad F.B, Kok, J.R., Means, D.B., Noonan, B.P., Schargel, W. E & W.C. Wheeler. 2006. Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Amphibia: Athesphatanura: Dendrobatidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History* 299:1-262.
- Sturaro, M.J., J.C.L. Costa, O.A. Maciel, G.R. Lima-Filho, F.J. Rojas-Runjaic, D.P. Mejia, S. Ron & P.L. Peloso. 2020. Resolving the taxonomic puzzle of *Boana cinerascens* (Spix, 1824), with

resurrection of *Hyla granosa gracilis* Melin, 1941 (Anura: Hylidae).  
*Zootaxa* 1:1-30.

Vargas F. & F. Castro. 1999. Distribución y preferencias de  
microhábitat en anuros (Amphibia) en bosque maduro y áreas  
perturbadas de Anchicayá, Pacífico colombiano. *Caldasia* 1:95-  
108.

Vargas F. & M.E. Bolaños. 1999. Anfibios y reptiles presentes en  
Hábitats Perturbados de Selva Lluviosa Tropical en el Bajo  
Anchicayá, Pacífico Colombiano. *Revista de la Academia  
Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales* 23:499-511.



# ALBINISMO EN *CROTALUS SIMUS* (SQUAMATA: VIPERIDAE)

## ALBINISM IN *CROTALUS SIMUS* (SQUAMATA: VIPERIDAE)

Diego Armando Reyes-Cordova<sup>1</sup> & Ernesto Velázquez-Velázquez<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Museo de Zoología, Colección Herpetológica, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Libramiento Norte Poniente 1150, Colonia Lajas Maciel C. P 2903, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.

\*Correspondence: [ernesto.velazquez@unicach.mx](mailto:ernesto.velazquez@unicach.mx)

Received: 2024-06-06. Accepted: 2024-06-12. Published: 2024-08-13.

Editor: Norberto Martínez-Méndez, México.

**Abstract.**— Herein, we report the first observation of the alteration of wild coloration patterns in a juvenile specimen of *Crotalus simus* Latreille, 1801, which was diagnosed with albinism. The existence of color variations in wild snake populations and their implications for fitness are discussed.

**Keywords.**— Chiapas, genetic condition, Middle American Rattlesnake, Pacific coast, pigmentation.

**Resumen.**— Presentamos aquí la primera observación de la alteración de los patrones de coloración, en un espécimen juvenil de *Crotalus simus* Latreille, 1801, que fue diagnosticado con albinismo. Se discute la existencia de las variaciones de color en las poblaciones de serpientes silvestres y las implicaciones de estas para la aptitud.

**Palabras clave.**— Chiapas, condición genética, costa del Pacífico, Cascabel centroamericana, pigmentación.

Las especies de serpientes han desarrollado numerosos patrones de coloración con funciones que ayudan en la termorregulación, el camuflaje, la advertencia y la imitación (Bechtel, 1978; Krecsák, 2008; Urra, 2021). El albinismo se define generalmente como la ausencia de la pigmentación negra y marrón generalmente proporcionada por las células llamadas melanóforos, pero los otros dos tipos celulares, xantóforos y los iridóforos son funcionales, lo que resulta en un patrón de pigmentos amarillos en la piel, con variantes anaranjadas y rojas, además de ojos rojos (Bechtel, 1991). El albinismo depende de las modificaciones en varias vías bioquímicas causada por diferentes defectos genéticos, el cual puede producir albinismo total (Bechtel, 1991; Urra et al., 2021), o bien por influencia de algún tipo de infección o enfermedad por lesiones en los folículos celulares (Phillips, 1954).

La coloración juega un papel importante en evitar la depredación a través del mimetismo o el aposematismo (Sweet, 1985) y también en la comunicación inter e intraespecífica, además de la selección sexual (Roulin & Bize, 2006). En consecuencia, ambas formas de coloración aberrante son raras en la naturaleza por lo que los individuos albinos o leucísticos rara vez sobreviven y se reproducen (Bechtel & Bechtel, 1981; Krecsák, 2008; Deshmukh et al., 2020).

Los defectos de color heredados, como el albinismo y el leucismo, están bien documentados en muchas especies de serpientes (Bechtel, 1991). Recientemente, Devkota et al. (2020) mostraron una lista de especies de serpientes con leucismo, las cuales fueron verificadas con fotografías o descripciones que mencionaban específicamente la coloración de los ojos. En México se han reportado casos de serpientes con la presencia de coloración atípica (melanismo) en individuos pertenecientes a la familia Viperidae, entre ellas *Crotalus ravus*, *Crotalus aquilus*, *Crotalus viridis*, *Crotalus ravus*, *Crotalus intermedius omiltemanus* (Armstrong & Murphy, 1979), y recientemente en *Crotalus intermedius gloydi* (Rueda & Trujano, 2023).

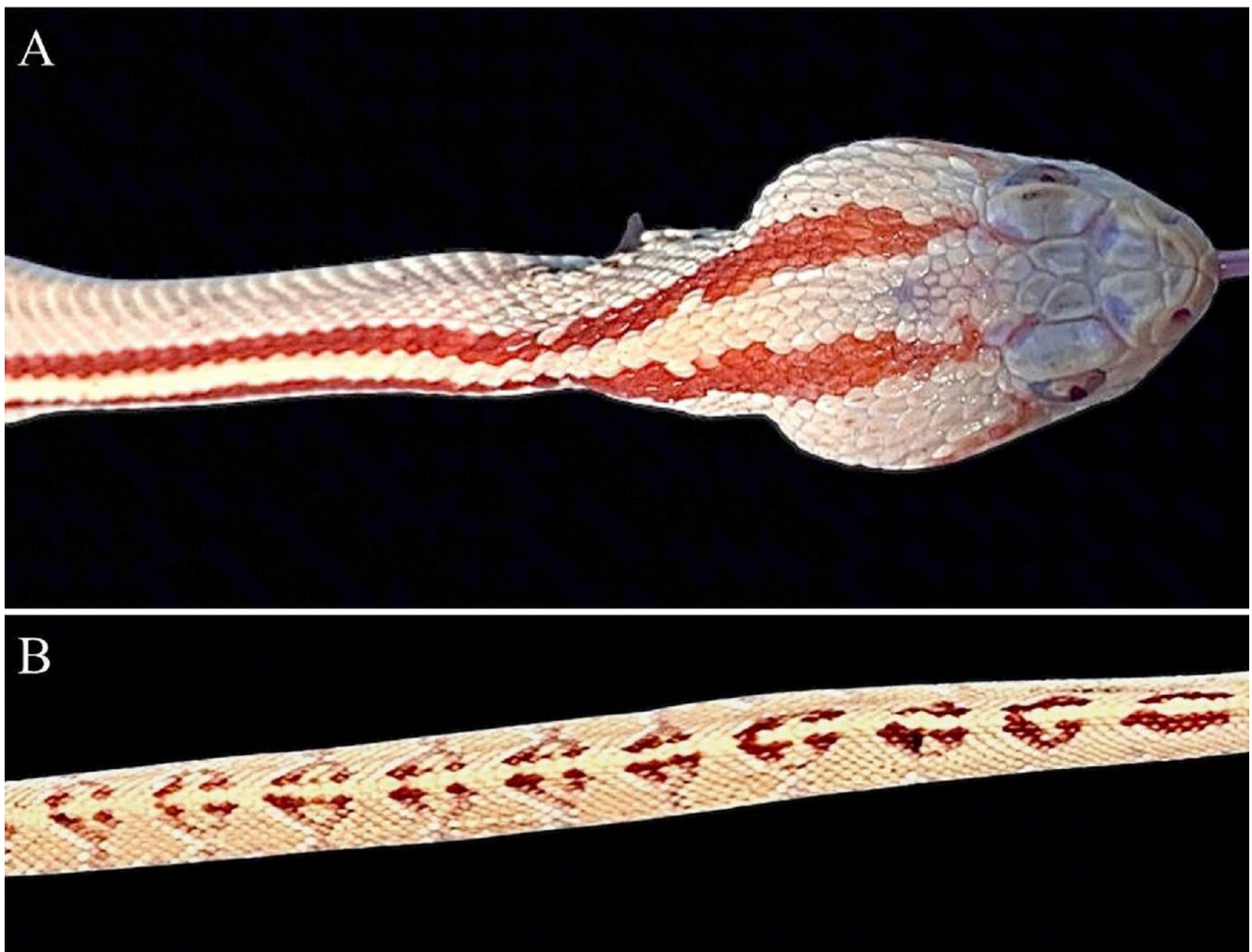
*Crotalus simus* Latreille 1801, es una serpiente de cascabel robusta que se distribuye desde el sur del Istmo de Tehuantepec, en la costa de Chiapas, México, hasta Costa Rica, en Centroamérica (Carbajal-Márquez, 2020). Esta serpiente normalmente supera los 130 cm de longitud total, pero la longitud máxima que se ha registrado es 180 cm. Su cabeza es triangular, el cuerpo con coloraciones que pueden ir desde el café claro, grisáceo, rojizo, hasta el verdoso o amarillento, con un patrón de 21 a 32 manchas romboides en color café oscuro, centro claro y bordes blancos a lo largo del dorso (Campbell & Lamar, 2004). Es común que los machos alcancen dimensiones mayores que las hembras. Los

adultos presentan un surco espinal a la altura de las escamas dorsales (Campbell & Lamar, 2004). Presentan de 170 a 177 escamas ventrales; de 27 a 30 subcaudales; dos escamas cantales; dos internasales; de 13 a 15 supralabiales, de 15 a 17 infralabiales, de 27 a 29 filas de escamas dorsales (normalmente 27) (Carbajal-Márquez, 2020).

El 28 abril de 2021, en la localidad de La Nueva Esperanza, municipio de Mapastepec, ubicado en la costa pacífica de Chiapas, México (15.45774° N, 92.83396° W), un espécimen de *Crotalus simus* con coloración anormal fue muerto por un agricultor, en las cercanías de sus tierras de cultivo, ubicadas a 13 km de la cabecera municipal de Mapastepec, Chiapas, México. El espécimen fue fotografiado (Figura 1 A-B) y posteriormente

traslado al Museo de Zoología de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (MZUNICACH).

En el laboratorio el ejemplar fue fijado en formol al 10 % y conservado en alcohol al 70 %, el ejemplar fue nuevamente fotografiado (Figura 2 A-B), medido e ingresado a la colección Herpetológica del Museo de Zoología de la UNICACH (MZUNICACH-R 0825). El organismo es una serpiente juvenil de 640 mm de longitud total, que exhibe una coloración blanca amarillenta en todo el cuerpo, con dos franjas postoculares en tonos rojizos; presenta un patrón de 11 manchas romboides en color rojizo a lo largo del dorso, las cuales se desvanecen hacia la parte caudal. Además, presentó los ojos típicamente rojizos por lo que el ejemplar fue diagnosticado como una serpiente



**Figure 1.** Head (A) and back region (trunk) (B) of *Crotalus simus* with albinism, recently killed. Total length 640 mm. Photo: Diego A. Reyes Córdoba.

**Figura 1.** Región de la cabeza (A) y tronco (B) de *Crotalus simus* con albinismo, recientemente asesinada. Longitud total 640 mm. Foto: Diego A. Reyes Córdoba.

albina (Figura 1 A-B). En alcohol la coloración del ejemplar se tornó completamente blanca, las franjas y manchas rojizas desaparecieron, conservando solamente los ojos rojizos (Figura 2 A-B).

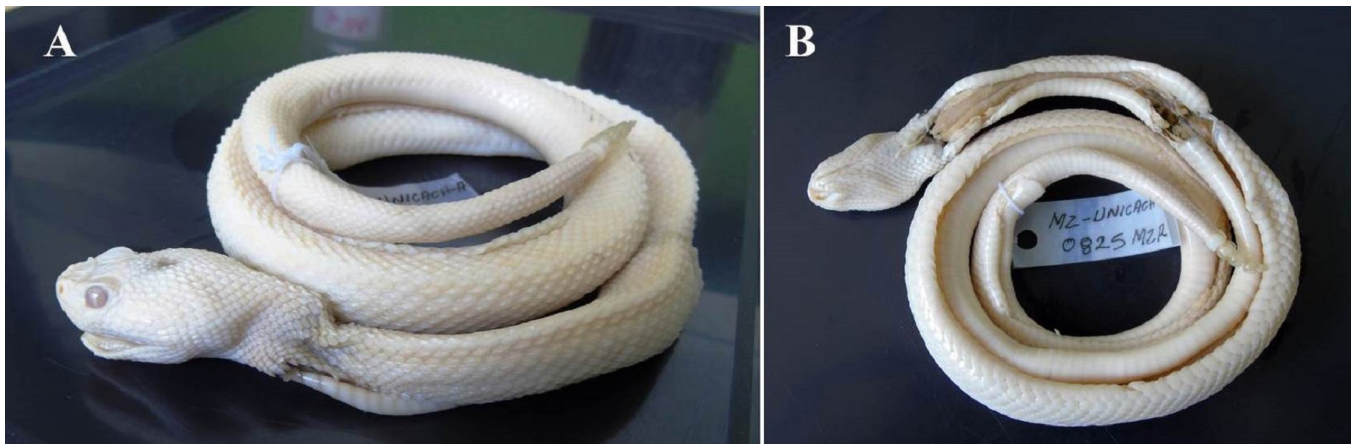
El ejemplar presentó 175 escamas ventrales, 30 escamas subcaudales completas y sin escamas subcaudales divididas al final de la cola, la escama postnasal hace contacto sólo con la primera supralabial. La escama loreal está en contacto con la primera y segunda supralabial, la escama anal está dividida; cuenta con cuatro córtales completos y uno incompleto.

Este registro, constituye el primer caso documentado de albinismo en la cascabel centroamericana, *Crotalus simus*, en Chiapas, el estado más sureño de la República Mexicana. Recientemente Carbajal-Márquez et al. (2020), restringieron la distribución de *C. simus* para la costa sur de Chiapas, en México, hasta Costa Rica, en Centroamérica. En Chiapas se localiza mayormente en la costa del Pacífico, en donde tiene buena representatividad en las Áreas Naturales Protegidas de esta

región del estado (Hidalgo-García et al., 2018). La localidad de registro del ejemplar albino, cae dentro del límite de distribución natural de *C. simus* reportado por Carbajal-Márquez et al. (2020). Aunque en México, esta especie no está amenazada (SEMARNAT, 2018) y la UICN la considera con preocupación menor (LC) (Dwyer et al., 2022). Kolhler (2008), señala que debido a que los agricultores suelen matar a casi todas las serpientes de cascabel que se encuentran, esta especie es extremadamente rara en su área de distribución.

En particular, las implicaciones de estos fenotipos raros en el metabolismo y termorregulación en estas serpientes, así como su aptitud en el medio ambiente sigue siendo en gran medida desconocido (Urra et al., 2021). Se requieren más estudios para entender la relevancia de estas anomalías de coloración y sus implicaciones para la historia natural de las especies de *Crotalus*.

**Agradecimientos.**—Agradecemos al señor Emigdio Argueta, por la donación del ejemplar y por el apoyo en campo para la recolección de datos de la localidad.



**Figure 2.** Dorsal (A) and ventral (B) view of *Crotalus simus* with albinism from Pacific coast of Chiapas, México. Total length 640 mm. Photo: Ernesto Velázquez-Velázquez.

**Figura 2.** Vista Dorsal (A) y Ventral (B) de un ejemplar de *Crotalus simus* con albinismo de la costa del Pacífico de Chiapas, México. Longitud total 640 mm. Foto: Ernesto Velázquez-Velázquez.

## LITERATURA CITADA

- Armstrong, B.L & J.B. Murphy. 1979. The natural history of Mexican rattlesnakes. Natural History Museum, University of Kansas. Special Publication 5:1-88.
- Bechtel, H.B. 1991. Inherited color defects. Comparison between humans and snakes. *International Journal of Dermatology* 30:243-246.
- Bechtel, H.B. 1978. Color and pattern in snakes (Reptilia, Serpentes). *Journal of Herpetology* 12:521-532.
- Bechtel, H.B. & E. Bechtel. 1981. Albinism in the snake, *Elaphe obsoleta*. *Journal of Herpetology* 15:397-402.

- Campbell, J.A. & W.W. Lamar. 2004. The Venomous Reptiles of the Western Hemisphere. Comstock Publishing Associates, Ithaca, New York, New York, USA.
- Carbajal-Márquez, R.A., J.R. Cedeño-Vázquez, A. Martínez-Arce, E. Neri-Castro & S.C. Machkour-M'Rabet. 2020. Accessing cryptic diversity in Neotropical rattlesnakes (Serpentes: Viperidae: *Crotalus*) with the description of two new species. *Zootaxa* 4729:451-481.
- Deshmukh, R.V., S.A. Deshmukh, A.A. Badhekar, J. Rewatkar, V. Pachare & B. Kawale. 2020. First records of albinism or leucism in six species of snakes from central India. *IRCF Reptiles & Amphibians* 26:174-179.
- Devkota, K., D.N. Mandal, G. Sah, M. O'Shea & H. Kaiser. 2020. First report of leucism for the kraits *Bungarus walli* Wall, 1907 and *B. niger* Wall, 1908, with updates on their geographic distribution in Nepal (Serpentes, Elapidae). *Herpetology Notes* 13:817-825.
- Dwyer, Q., W. Lamar, L.W. Porras, A. Solórzano, J. Sunyer & G. Chaves. 2022. *Crotalus simus* (amended version of 2014 assessment). The IUCN Red List of Threatened Species 2022: e.T197480A217775736. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2022-1.RLTS.T197480A217775736.en>. [Consultado en mayo de 2024].
- Gunther, K. 2008. Reptiles of Central America. Herpeton Verlag Elke Kohler, Offenbach am Main, Germany.
- Hidalgo-García, J.A., J.R. Cedeño-Vázquez, R. Luna-Reyes & D. González-Solís. 2018. Modelling the geographic distribution of four venomous snakes and their social perception in southeastern Altiplanicie de Chiapas. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)* 34:1-20.
- Krečsák, L. 2008. Albinism and leucism among European Viperinae: A review. *Russian Journal of Herpetology* 15:97-102.
- Phillips, A.R. 1954. The cause of partial albinism in a Great-tailed Grackle. *Wilson Bulletin* 66:66.
- Roulin, A. & P. Bize. 2006. Sexual selection in genetic colour-polymorphic species: a review of experimental studies and perspectives. *Journal of Ethology* 25:99-105.
- Rueda, H.D. & J.D. Trujano. 2023. Observación de melanismo en *Crotalus intermedius gloydi* (Squamata: Viperidae). *Revista Latinoamericana de Herpetología* 2:194-198
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 2018. Programa de Acción para la Conservación de las Especies: Serpientes de Cascabel (*Crotalus* spp.). SEMARNAT/CONANP, México.
- Sweet, S.S. 1985. Geographic variation, convergent crypsis and mimicry in Gopher Snakes (*Pituophis melanoleucus*) and Western Rattlesnakes (*Crotalus viridis*). *Journal of Herpetology* 19:44-67.
- Urta, F.A., A. Zúñiga, N. Melero, N. Reyes, Y. Herrera, A.B. Miranda-Calle & J.C. Ortiz. 2021. Leucism and albinism in the rear-fanged snakes *Tachymenis chilensis chilensis* (Schlegel, 1837) and *Tachymenis chilensis coronellina* Werner, 1898 (Serpentes, Dipsadidae). *Herpetozoa* 34:125-129.



# NUEVA CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO DE LA DISTRIBUCIÓN DE *TELMATOBIUS* CF. *ATACAMENSIS* GALLARDO, 1962 EN LA PROVINCIA DE SALTA, ARGENTINA

NEW CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF THE DISTRIBUTION OF *TELMATOBIUS* CF. *ATACAMENSIS* GALLARDO, 1962 FROM THE PROVINCE OF SALTA, ARGENTINA

Rebeca Acosta<sup>1,2</sup>, Mónica C. Soliz<sup>2,3\*</sup>, Josué Resina Pastori<sup>1,2</sup>, Rolando Vera<sup>1,2</sup>, Sofía Castro Cavicchini<sup>1,2</sup>, Alejandro Núñez<sup>1,2</sup>, Carla Rodríguez<sup>1,2</sup>, Nancy González Turu<sup>1,2</sup>, Facundo Alvarez<sup>1,2</sup>, Eduardo H. Sisti<sup>4</sup>, Esteban Palacios<sup>4</sup> & Miguel Mamani<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Escuela de Biología. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Salta. Avenida Bolivia 5150 (4400), Salta, Argentina.

<sup>2</sup>Consejo de Investigación Universidad Nacional de Salta. Avenida Bolivia 5150 (4400) Salta, Argentina.

<sup>3</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Cátedra Vertebrados, Salta, Argentina.

<sup>4</sup>Pacha Consultora Ambiental. Salta, Argentina.

\*Correspondence: [monica.c.soliz@gmail.com](mailto:monica.c.soliz@gmail.com)

Received: 2023-12-28. Accepted: 2024-06-10. Published: 2024-08-15.

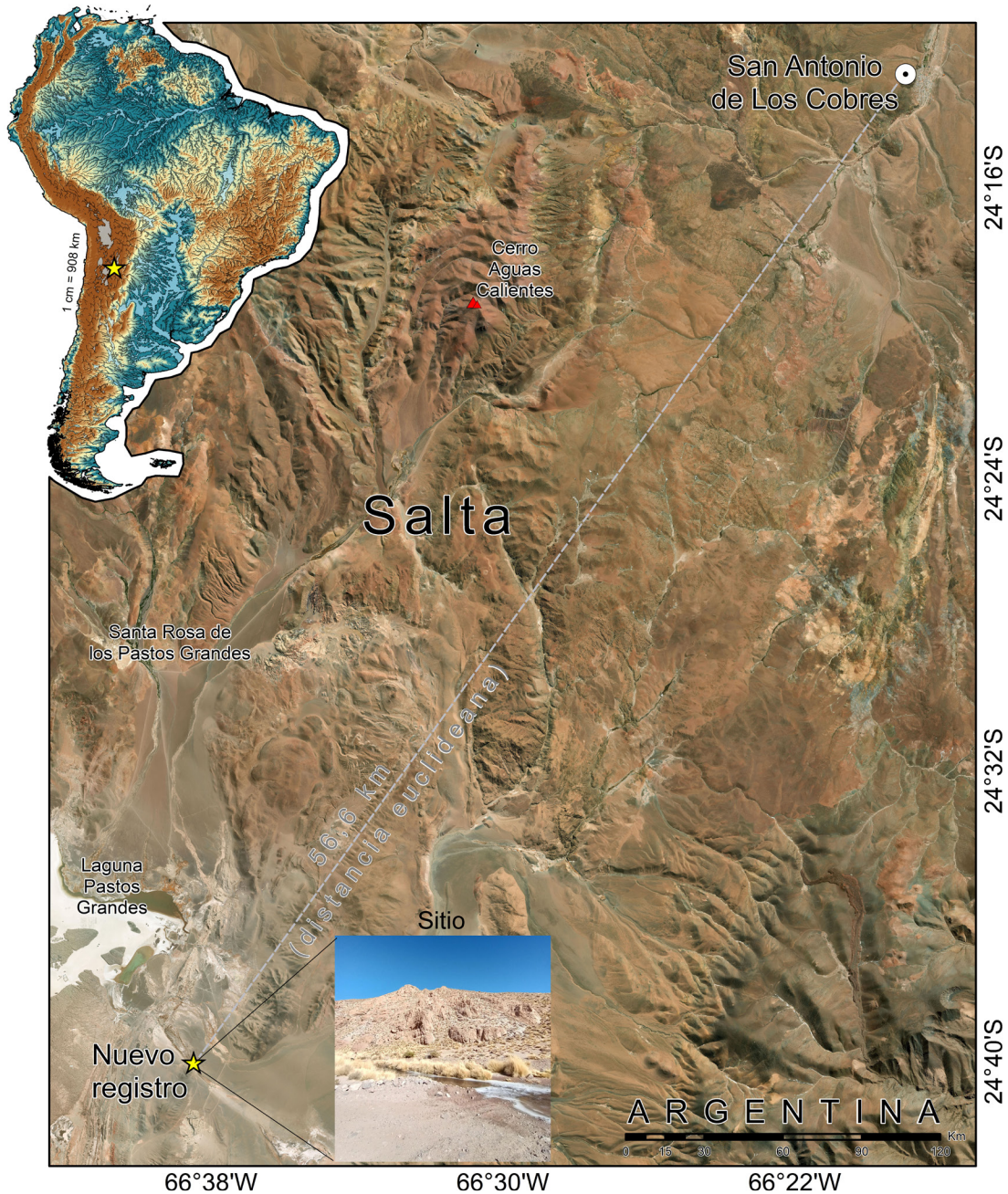
Editor: Felipe Rabanal, Chile.

El género *Telmatobius* Wiegmann, 1834 consta de 61 especies (Frost, 2024) con una distribución altoandina desde Ecuador hasta Argentina y Chile (Lavilla & Barrionuevo, 2005; De la Riva et al., 2005). Aunque su distribución altitudinal varía entre los 1,000 y 5,200 m s.n.m. la mayoría se encuentra entre los 3,000 y 4,000 m s.n.m. (De la Riva & Harvey, 2003; Seimon et al., 2007). Las especies de este género que se distribuyen a mayor altitud son típicamente acuáticas encontrándose en arroyos, manantiales termales, lagos y lagunas (Vellard, 1952; De la Riva et al., 2005; Barrionuevo, 2016). *Telmatobius atacamensis* Gallardo, 1962 es una rana de hábitos completamente acuáticos, considerada microendémica a la puna salteña, debido a que presenta una distribución geográfica restringida (Lavilla & Barrionuevo, 2005; Vaira et al., 2012; Acosta et al., 2014; Salica et al., 2023 Frost, 2024). Su localidad tipo es San Antonio de los Cobres (24°12'15.63" S, 66°21'15.63" W, 3,994 m s.n.m.), aunque se ha sugerido que dicha población se encontraría extinta (Cei & Lavilla, 2001; IUCN, 2024). Sin embargo, recientemente se han registrado nuevas poblaciones en cercanías de San Antonio de los Cobres y en el río Los Patos, tributario del río San Antonio (Barrionuevo & Abdala, 2018; Acosta et al., 2020). Pese a ello, y debido a que su área de distribución es tan restringida y que las poblaciones conocidas se encuentran fuertemente amenazadas por el cambio en el uso del suelo (por urbanizaciones, minería, comercio), la contaminación, la introducción especies invasoras y enfermedades emergentes (Barrionuevo & Mangione, 2006; IUCN, 2024), este anuro, se encuentra categorizado como Amenazado (Vaira et al., 2012) y más recientemente en Peligro Crítico (IUCN, 2024).

En el marco del proyecto “Caracterización de núcleos reproductivos de anuros en el departamento Los Andes, Salta” realizamos una prospección de distintos cuerpos de agua de la zona Santa Rosa de los Pastos Grandes y el 14 de septiembre de 2023, a las 12:04 h, se registró la presencia de una población de *Telmatobius* cf. *atacamensis* en un arroyo tributario (24°37' S, 66°39' W) de la laguna Pastos grandes (Fig. 1). Se observaron 12 adultos y 30 larvas en diferentes estadios de desarrollo, entre la vegetación acuática del arroyo, y se realizó un registro fotográfico (Fig. 2). En este sitio, se registraron parámetros de temperatura ambiente: 19° C, del cuerpo de agua: 16.7° C, conductividad: 5.58, oxígeno disuelto: 7.3, pH: 7.2; con medidor digital pH55/° C y EC60 Milwaukee y oxímetro digital Milwaukee Mw600.

Se colectó un individuo adulto hembra moribunda y una larva en estadio 34 (Gosner, 1960). Ambos fueron sacrificados procediendo en primer lugar a anestesiarse con un hisopado con solución de lidocaína para luego ser fijado en formol al 10 % y conservado en alcohol 70°. Los ejemplares se colectaron considerando el estatus de conservación de la especie y de acuerdo a los permisos otorgados por la Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la provincia de Salta (Exp. 0090227-239090/2023-0; Res. 00296), que sugieren restringir la recolección debido al estado de conservación de la especie y con lo cual los autores acuerdan. Los ejemplares colectados fueron depositados en el Museo de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Salta “Miguel Ángel Arra”, con los siguientes números MCNS-He 331 (adulto), MCNS-He 332 (larva).



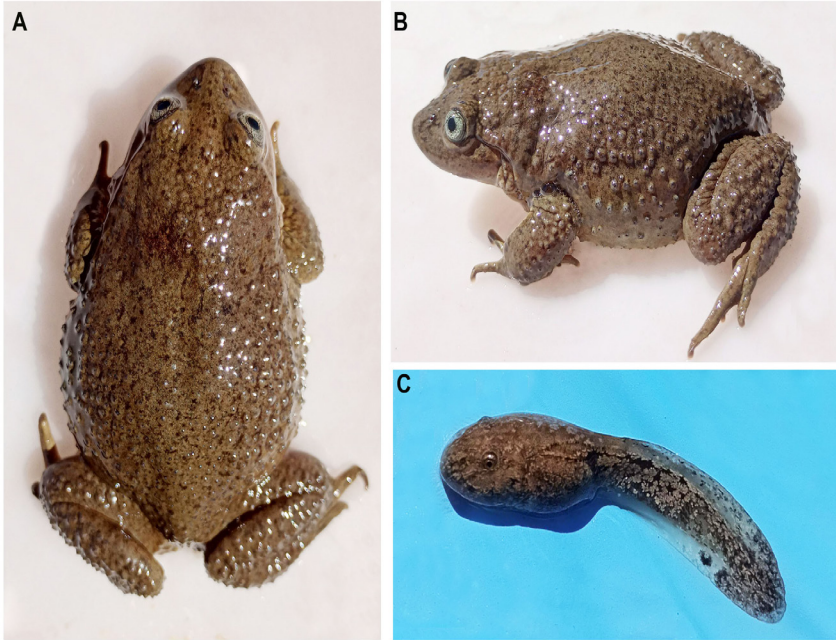


**Figura 1.** Localidad de registro (marcador estrella amarilla) de *Telmatobius* cf. *atacamensis*, en la Provincia de Salta, Argentina.

**Figure 1.** Location of occurrence (yellow star marker) of *Telmatobius* cf. *atacamensis*, in the Province of Salta, Argentina.

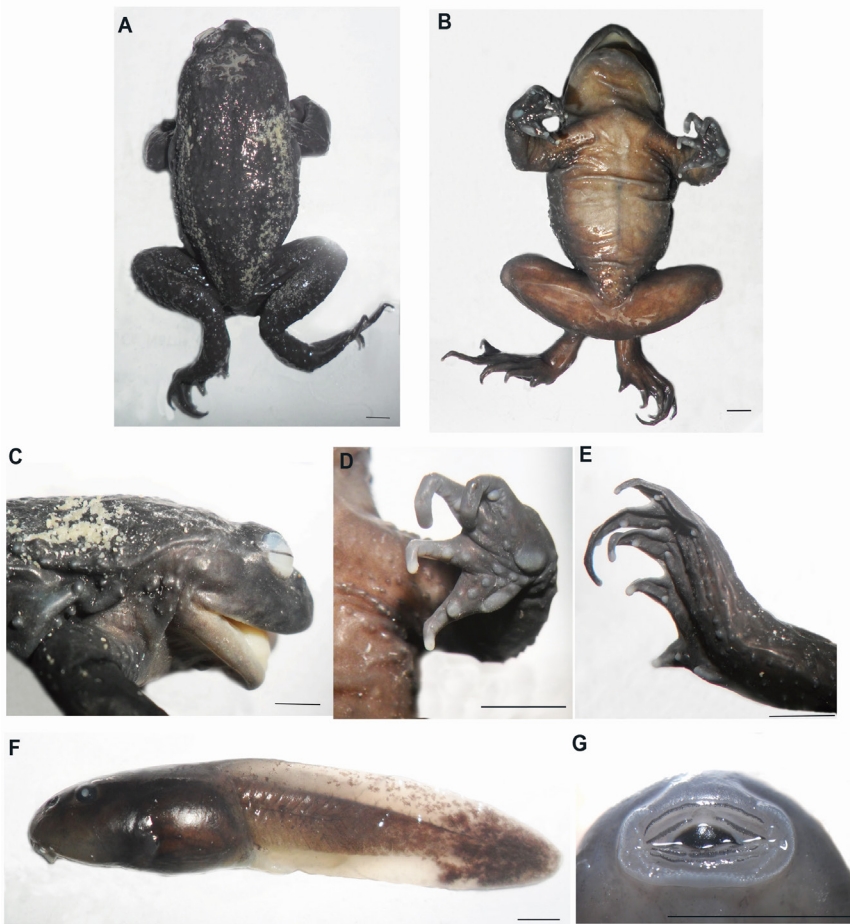
Los especímenes colectados presentan las siguientes características morfológicas: piel dorsal con granulaciones no muy elevadas que se extienden desde detrás de los ojos, más marcadas en los miembros posteriores (Fig. 3A). Piel ventral con escasas verrugas, más desarrolladas a los lados del vientre, en la región pélvica y a ambos lados del pecho (Fig. 3B). Pliegues axilar y suprahumeral ausentes, protuberancias postoculares ausentes.

Granulaciones con puntas córneas en la región lateral del tronco. Hocico acuminado en vista dorsal, *canthus rostralis* poco marcado, región loreal deprimida, narinas a mitad de distancia del espacio ojo-hocico. Pliegue supratimpánico poco marcado (Fig. 3A-C). Dedos de la mano enteramente libres, el primero ligeramente más que el segundo. Tubérculo metacarpal externo subrectangular y el interno, elíptico y con gran cantidad de callosidades (Fig. 3D).



**Figura 2.** Ejemplares de *Telmatobius* vivos en el área del nuevo registro. A) Ejemplar adulto en vista dorsal. B) Ejemplar adulto en vista ventral. C) Ejemplar larval estadio 34 en vista lateral izquierda. Fotos: Carla Rodríguez y José Ignacio Núñez Acosta.

**Figure 2.** Live specimens of *Telmatobius* in the newly registered area. A) Adult specimen in dorsal view. B) Adult specimen in ventral view. C) Larval stage specimen stage 34 in lateral left view. Photos: Carla Rodríguez y José Ignacio Núñez Acosta.



**Figura 3.** . Ejemplares de *Telmatobius* colectados en el área de nuevo registro, desde A hasta E: Hembra adulta, F y G: Larva en estadio 34. A) Vista dorsal. B) Vista ventral. C) Vista lateral derecha de la región cefálica. D) Vista ventral de la mano izquierda. E) Vista ventral de la pata izquierda. F) Vista lateral. G) Detalles del disco oral. Escala: 5mm.

**Figure 3.** Specimens of *Telmatobius* collected in the newly recorded area, A to E: Adult female, F and G: Larva in stage 34. A) Dorsal view. B) Ventral view. C) Right lateral view of the cephalic region. D) Ventral view of the left hand. E) Ventral view of the left leg. F) Left lateral view. G) Details of the oral disc. Scale: 5mm.

Tubérculo metatarsal interno evidente, el externo es apenas visible (Fig. 3E). Coloración del material conservado: dorso uniformemente gris oscuro, casi negro; castaño ventralmente. Medidas del individuo colectado: longitud total (LT): 58.1 mm, largo de la cabeza: 20.7 mm, ancho de la cabeza: 22.6 mm, índice cefálico 0.9 (Fig. 3). El espécimen larval presenta coloración dorsal oscura y el espiráculo se abre hacia la izquierda. El disco oral presenta varias filas de papilas laterales y posteriores y la fórmula dentaria: 1, 1-1 / 1-1, 2 (Fig. 3 F-G). Dichas características permitirían asignarlo provisoriamente a la especie *Telmatobius* cf. *atacamensis*, basados en lo descrito por Gallardo (1962) y Cei (1980). Sin embargo, sugerimos que en futuros análisis, se realicen evaluaciones morfológicas más exhaustivas y estudios moleculares con el fin de determinar la identidad taxonómica de la población, debido al extremo polimorfismo que presentan los individuos del grupo *T. marmoratus*, por cuanto resulta complejo identificar taxonómicamente a la especie solo en base a caracteres morfológicos externos (Barrionuevo, 2016).

Este nuevo registro representa un importante aporte hacia el conocimiento de *Telmatobius* en Argentina. Este nuevo punto de ocurrencia, se encuentra a 57 km al suroeste de la localidad tipo de *T. atacamensis* (Gallardo, 1962), siendo la especie más cercana descrita en la zona (Lavilla & Barrionuevo, 2005). De confirmarse la identidad taxonómica de la nueva población encontrada de *Telmatobius* cf. *atacamensis*, se extendería la distribución de la especie hacia el suroeste.

A pesar de las dificultades taxonómicas que implica la determinación de la especie con base en datos morfológicos externos, la incorporación de un nuevo registro de ocurrencia en la ecoregión puna de la provincia de Salta es sumamente valioso para el género *Telmatobius*, sobre todo teniendo en cuenta las amenazas a las que este se enfrenta, tales como el cambio en el uso de suelos por urbanizaciones, minería y comercio, además de la contaminación, la aparición de enfermedades emergentes, como la quitridiomycosis y las especies invasoras (Barrionuevo & Mangione, 2006; Acosta et al., 2020; IUCN, 2024).

Finalmente, es importante continuar con estudios ecológicos y avanzar en acciones concretas de conservación, teniendo en cuenta el ambiente críticamente sensible por el avance de la actividad minera y la fragilidad de los humedales de altura (Izquierdo et al., 2018).

**Agradecimientos.**- A la Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la provincia de Salta y al Consejo de Investigación de la Universidad Nacional de Salta (CIUNSA).

## LITERATURA CITADA

- Abdenur Araos, F., R. Vera, S. Castro-Cavicchini, N. González-Turu, A. Nuñez & R. Acosta. 2022. Dieta de *Telmatobius atacamensis* (Anura: Telmatobiidae): primeros aportes al conocimiento sistemático del nicho trófico. *Caldasia* 44: 619-626.
- Acosta, R., R. Vera, S. Castro Cavicchini, A. Núñez, N. González Turu, F. Abdenur Araos & R. Figueroa. 2020. Aspectos ecológicos de *Telmatobius atacamensis* (Anura: Telmatobiidae), un microendemismo de la Puna, Salta-Argentina. *Revista Peruana de Biología* 27:113-20.
- Acosta, R., A. Núñez, R. Figueroa & E. Guantay. 2014. Estado de conservación de los anfibios en la provincia de Salta: dimensión local de un problema global. *Revista Lhawet* 3:35-40.
- Barrionuevo, J.S. 2016. Independent evolution of suction feeding in Neobatrachia: feeding mechanisms in two species of *Telmatobius* (Anura: Telmatobiidae). *Anatomical Record* 299:181-196.
- Barrionuevo, J.S. & C.S. Abdala. 2018. Herpetofauna de la Puna argentina: una síntesis. Pp. 209-228. En H.R. Grau, M.J. Babet, A.E. Izquierdo & A. Grau (Eds.), *La Puna Argentina: naturaleza y cultura*. Editorial: Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina.
- Cei, J.M. 1980. *Amphibians of Argentina*. *Monitore Zoologico Italiano Nuova Serie, Monographia*. Florencia, Italia.
- Cei, J.M. & E.O. Lavilla. 2001. *Amphibians of Argentina. A Second Update, 1987-2000*. Museo Regionale di Scienze Naturali, Torino, Italia.
- De la Riva, I. & M. Harvey. 2003. A new species of *Telmatobius* from Bolivia and a redescription of *T. simonsi* Parker, 1940 (Amphibia: Anura: Leptodactylidae). *Herpetológica* 59:127-142.
- De la Riva, I., J. Aparicio & J.N. Ríos. 2005. New species of *Telmatobius* (Anura: Leptodactylidae) from humid paramo of Peru and Bolivia. *Journal of Herpetology* 39:409-416.
- Frost, D.R. 2024. *Amphibian Species of the World: an Online Reference*. Version 6.2. Electronic Database accessible at <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA. [Consultado en Febrero 2024].
- Gallardo, J.M. 1962. Los géneros *Telmatobius* y *Batrachophrynus* en la Argentina (Anura: Leptodactylidae). *Neotropica* 8:45-58.

- Gosner, K. 1960. A simplified table for stating anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetológica* 16:183-190.
- IUCN SSC Amphibian Specialist Group. 2019. *Telmatobius rubigo*. The IUCN Red List of Threatened Species 2024: e.T200645A2675750. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-1.RLTS.T200645A2675750> [Consultado en Febrero 2024].
- Izquierdo, A.E., M. R. Aragón, C.J. Navarro & M.E. Casagrande. 2018. Humedales de la Puna: principales proveedores de servicios ecosistémicos de la región. Pp. 96-111. En Grau H.R., M.J. Babot, A. Izquierdo & A. Grau. (Eds.). Serie de Conservación de la Naturaleza 24: La Puna argentina: naturaleza y cultura. Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina.
- Lavilla, E.O. 1985. Diagnósis genérica y agrupación de las especies de *Telmatobius* (Anura: Leptodactylidae) en base a caracteres larvales. *Physis B* 43:63-67.
- Lavilla, E.O. & S.J. Barrionuevo. 2005. El género *Telmatobius* en la República Argentina: una síntesis. *Asociación Herpetológica Española. Monografía de Herpetología* 7:115-165.
- Salica, M.J., M.S. Gaston, M.S. Akmentins & M. Vaira. 2024. Threatened aquatic Andean frogs and mining activity in the Lithium Triangle of South America: Can both coexist? *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 34: e4044.
- Seimon, T.A., A. Seimon, P. Daszak, S.R.P. Halloy, L.M. Schloegel, C.A. Aguilar & J. Simmons. 2007. Upward range extension of Andean anurans and chytridiomycosis to extreme elevations in response to tropical deglaciation. *Global Change Biology* 13:288-299.
- Vaira, M., M. Akmentins, M. Attadem, D. Baldo, D. Barrasso, S. Barrionuevo, N. Basso, B. Blotto, S. Cairo, R. Cajade, J. Céspedes, V. Corbalán, P. Chilote, M. Duré, C. Falcione, D. Ferraro, F. Romina Gutierrez, M. Ingaramo, C. Junges, R. Lajmanovich, J. N. Lescano, F. Marangoni, L. Martinazzo, R. Marti, L. Moreno, G. S. Natale, J. M. Pérez Iglesias, P. Peltzer, L. Quiroga, S. Rosset, E. Sanabria, L. Sanchez, E. Schaefer, C. Úbeda & V. Zaracho. 2012. Categorización del estado de conservación de los anfibios de la República Argentina. *Cuadernos de Herpetología* 26:151-163..
- Viramonte, J.M. 2004. Estudio Petrológico, Geoquímico y Geocronológico del Complejo Igneo-Metamórfico Oire en el Borde Nororiental del Salar Centenario, Salta-Argentina. Tesis de Maestría. Escuela de Geología, Departamento de Geología Básica, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.
- Vellard, J. 1952. Estudios sobre batracios andinos. I. El grupo *Telmatobius* y formas afines. *Memorias del Museo de Historia Natural "Javier Prado"* 1:1-89.



# COENDOU MEXICANUS (ERETHIZOTIDAE) COMO PRESA POTENCIAL DE *CROCODYLUS ACUTUS* (CROCODYLIDAE) EN LA VENTANILLA, OAXACA, MÉXICO

## COENDOU MEXICANUS (ERETHIZOTIDAE) AS POTENTIAL PREY OF *CROCODYLUS ACUTUS* (CROCODYLIDAE) IN LA VENTANILLA, OAXACA, MEXICO

Jesús García-Grajales<sup>1</sup>, Alejandra Buenrostro-Silva<sup>1\*</sup>, Josué Ariel Aguilar García<sup>2</sup>, Gaudencio Escamilla Cortés<sup>3</sup> & Olegario Hernández Ramírez<sup>3\*</sup>.

<sup>1</sup>Universidad del Mar campus Puerto Escondido. Km. 2.5, Carr. Federal Puerto Escondido-Sola de Vega, Puerto Escondido 71980, San Pedro Mixtepec, Oaxaca, México.

<sup>2</sup>Licenciatura en Ingeniería Forestal, Universidad del Mar campus Puerto Escondido. Km. 2.5, Carr. Federal Puerto Escondido-Sola de Vega, Puerto Escondido 71980, San Pedro Mixtepec, Oaxaca, México.

<sup>3</sup>Sociedad Cooperativa Lagarto Real. Playa Ventanilla, Santa María Tonameca, Oaxaca.

\*Correspondence: [alebsi@gmail.com](mailto:alebsi@gmail.com)

Received: 2024-04-27. Accepted: 2024-07-13. Published: 2024-08-16.

Editor: Oswaldo Hernández-Gallegos, México.

**Abstract.**— We present a case of interaction between a Mexican hairy dwarf porcupine (*Coendou mexicanus*) and an American crocodile (*Crocodylus acutus*) in La Ventanilla, Oaxaca, Mexico. In a mangrove area, we found a subadult *C. acutus* submerged in a shallow area of the lagoon. The animal presented several white projections emerging from the antero-lateral jaw region, concluding that these projections corresponded to the keratinized hair (barbs) of a porcupine, which are used as a defensive strategy to predators. This report offers evidence to include the tropical porcupine in the list of potential prey items of *C. acutus*.

**Key words.**— Barbs, diet, strategy, stalk, vertebrates.

**Resumen.**— Presentamos un caso de interacción entre un puercoespín tropical (*Coendou mexicanus*) y un cocodrilo americano (*Crocodylus acutus*) en la laguna de La Ventanilla, Oaxaca, México. Encontramos en un área de manglar a un subadulto de *C. acutus* sumergido en una zona poco profunda de la laguna. El animal presentaba varias proyecciones blanquecinas que emergían de la región antero-lateral de la mandíbula, concluyendo que dichas proyecciones correspondían a los pelos queratinizados (púas) dorsales del Puercoespín tropical, utilizados como estrategia defensiva ante depredadores. El presente reporte permite incluir al puercoespín tropical en la lista de presas potenciales de *C. acutus*.

**Palabras clave.**— Acecho, dieta, estrategia, vertebrados, púas.

Dentro de la dinámica ecológica de todos los organismos vivos, la depredación es una de las partes más fundamentales y comunes, la cual está basada en el esfuerzo que realiza un organismo por encontrar a una presa y alimentarse de ella (Curio, 1976); sin embargo, a la par de este proceso coevolucionaron estrategias defensivas en algunas presas para incrementar su sobrevivencia (Caro, 2005). En este sentido, identificar lo que un animal consume es la base para conocer los recursos alimenticios de los que dispone un depredador, la cantidad que consume y el tiempo invertido para su búsqueda (Gallina-Tessaro, 2011), influyendo en la condición corporal, historia de vida, reproducción y supervivencia del depredador (Parker et al.,

1999), así como aquellos elementos que frustran el ataque y que funcionan como estrategias anti-depredación (Caro, 2005).

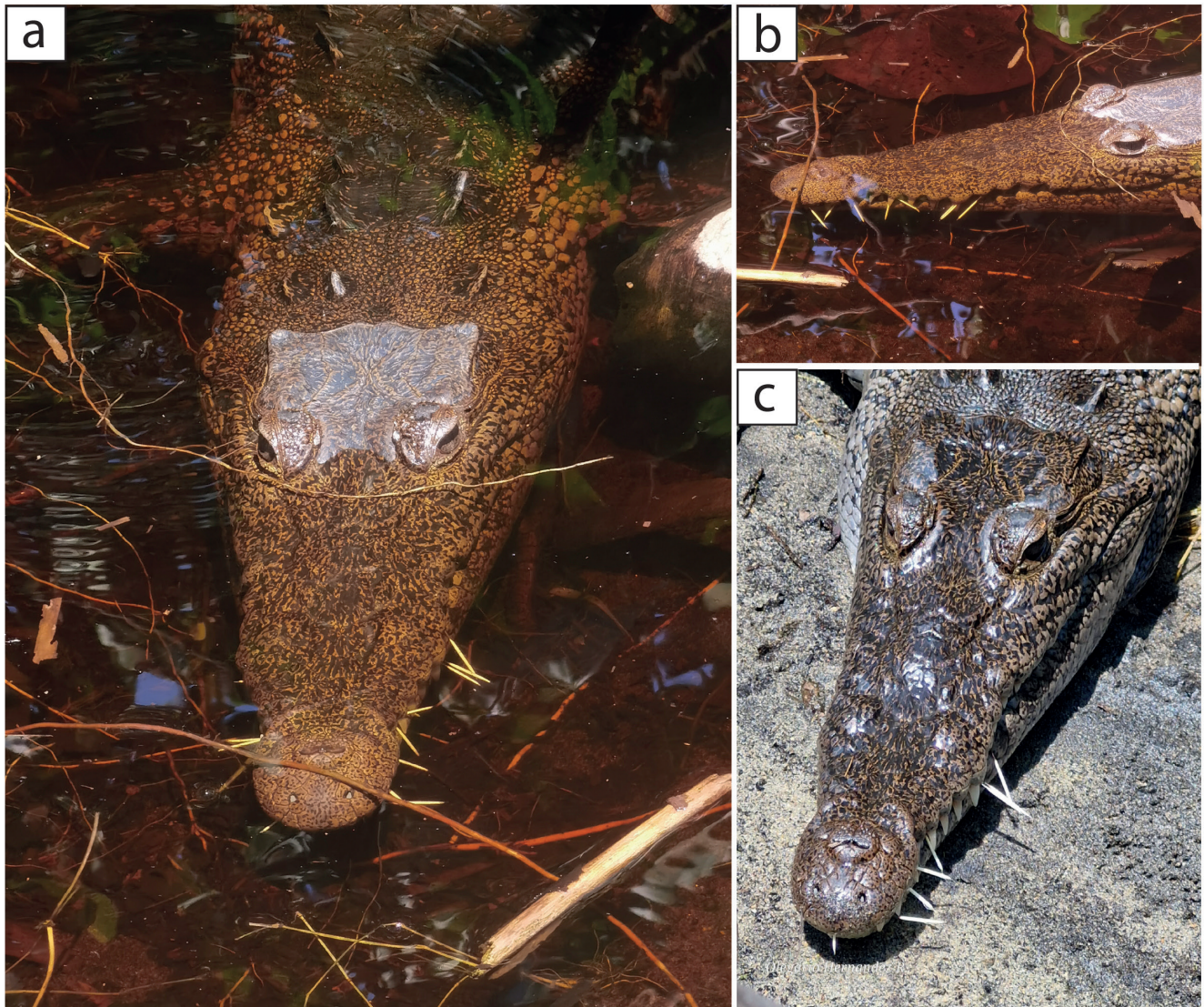
En este trabajo presentamos un caso de interacción entre el puercoespín tropical (*Coendou mexicanus*) y el cocodrilo americano (*C. acutus*) en la laguna de La Ventanilla, Oaxaca, México. El pasado 16 de marzo 2024, alrededor de las 12:38 h, encontramos en un área de manglar a un subadulto de *C. acutus* sumergido en una zona poco profunda y cercana a la orilla lagunar, rodeado de muchas raíces (Fig. 1a). Observamos que el animal presentaba varias proyecciones blanquecinas que emergían de la región antero-lateral de la mandíbula (Fig. 1b). Después de realizar el

registro fotográfico, logramos concluir que dichas proyecciones correspondían a los pelos queratinizados (púas) dorsales de *C. mexicanus*. Un día después, el cocodrilo fue encontrado en la misma zona tomando el sol exhibiendo aún las espinas en la región del hocico (Fig. 1c).

Esta situación resulta sin duda de una mordida al puercoespín por parte del cocodrilo; sin embargo, no encontramos evidencias adicionales (e.g., restos de cuerpo de puercoespín)

que nos permita precisar el tipo de interacción ocurrido (e.g., depredación, defensa). Aun así, con base en el tamaño del cráneo y la longitud de la mandíbula calculamos que el cocodrilo medía aproximadamente 1.40 m de longitud, un tamaño suficiente para poder someter a un puercoespín.

*Crocodylus acutus* es considerada una especie oportunista y de cacería activa o pasiva de acecho (Thorbjarnarson, 1989), por lo que su dieta depende de la factibilidad y disponibilidad de



**Figure 1.** Photographic evidence of American crocodile (*Crocodylus acutus*) with the keratinized hair of the Mexican hairy dwarf porcupine (*Coendu mexicanus*) embedded in the antero-lateral jaw region. Photos: a-b, Jesús García-Grajales; c, Olegario Hernández Ramírez.

**Figura 1.** Evidencia fotográfica del cocodrilo americano (*Crocodylus acutus*) con las púas queratinizadas del puercoespín tropical (*Coendu mexicanus*) incrustadas en la región antero-lateral de la mandíbula. Fotos: a-b, Jesús García-Grajales; c, Olegario Hernández Ramírez.

presas (Webb et al., 1982), así como de la estación del año, región geográfica, régimen hídrico, patrones de migración, entre otras (Platt et al., 2013). En cuanto a su dieta, resalta que sigue un patrón ontogénico, es decir, varía conforme el individuo va creciendo (Cupul-Magaña et al., 2015); por tanto, las crías y juveniles consumen principalmente invertebrados terrestres y acuáticos, mientras que los adultos se alimentan básicamente de vertebrados, siendo predominantemente piscívoros (Thorbjarnarson, 1989; Villegas & Schmitter-Soto, 2008; Platt et al., 2013; Farris et al., 2015; Venegas-Anaya et al., 2016).

*Crocodylus acutus* presenta una distribución que abarca desde el sur de Florida, Estados Unidos, algunas islas del Caribe, la península de Yucatán, así como el norte de Sinaloa en la costa del Pacífico de México hasta el norte de Perú, incluyendo Centroamérica hasta Venezuela (Thorbjarnarson, 1989); sin embargo, a pesar de esta amplia distribución existen pocos estudios que documenten a las presas de esta especie (Cupul-Magaña et al., 2015).

Actualmente se han identificado 56 presas que forman parte de la dieta de *C. acutus* (Cupul-Magaña et al., 2015) incluyendo insectos, peces, crustáceos, anfibios, tortugas, reptiles, aves y mamíferos (Hernández-Vázquez, 2001; Casas-Andreu & Barrios-Quiroz, 2003; Villegas & Schmitter-Soto, 2008; Platt et al., 2013; Cupul-Magaña et al., 2015; Farris et al., 2015; Venegas-Anaya et al., 2016). No obstante, a pesar de que *C. acutus* es considerado un exitoso depredador sigiloso de acecho (Thorbjarnarson, 1989), existe información documentada sobre intentos fallidos de depredación, por ejemplo, sobre la tortuga mesoamericana (*Trachemys ornata*) (McCann et al., 2022). Esta situación deja en evidencia la presencia de presas potenciales que por algunas de sus características corporales dificultan su consumo por parte del depredador.

Respecto a los mamíferos, tres especies (*Capromys pilorides*, *Caluromys derbianus*, *Herpailurus yaguaroundi*) han sido documentadas como presas de esta especie (Álvarez del Toro, 1974; Casas-Andreu & Barrios Quiroz, 2003; Alonso-Tabet et al., 2014); sin embargo, no se ha considerado a *C. mexicanus* como presa potencial.

*Coendou mexicanus* es un roedor de tamaño medio, similar al de un conejo. Es considerada una especie solitaria y nocturna, principalmente arborícola, cuya alimentación se basa en el consumo de cortezas, hojas y eventualmente frutos (Juárez, 2005). En raras ocasiones se desplazan a nivel del suelo a menos que no haya conexión del dosel para trasladarse a otras áreas o se trate de la temporada reproductiva (Dector-Cobos et al., 2023).

Su característica distintiva es la presencia de pelo modificado recubierto de queratina, de color blanco-amarillento, de aproximadamente 4 cm de longitud mezcladas en el dorso con un pelaje de color que va del amarillo al café oscuro. En la parte ventral, las espinas son más cortas, flexibles y escasas, mezcladas con pelaje gris claro. La cola es prensil, larga y presenta escasas espinas en el primer tercio, con pelos hirsutos de color negro, mientras que el resto de la cola está desnuda (Juárez, 2005).

Las púas queratinizadas de *C. mexicanus* presentan microscópicamente una serie de cerdas espinosas orientadas en sentido inverso a la proyección del pelo, presentando en consecuencia un efecto de arpón, lo que dificulta su extracción una vez que estas se incrustan (Dector-Cobos et al., 2023) con la ayuda de los músculos subcutáneos que erectan al pelo como medida defensiva contra depredadores (Leopold, 1959). Una vez incrustadas las púas en la piel del atacante estas causan dolor, irritación, inflamación e infecciones (Vázquez et al., 2016) y dependiendo de la profundidad que alcance cada púa esta se podrá desplazar rápidamente hacia el interior del músculo u órganos vitales, y en algunas ocasiones pueden pasar entre órganos causando mayores lesiones (Caro, 2005).

En conclusión, la observación y registro de púas de *C. mexicanus* en las mandíbulas de un individuo de *C. acutus* en La Ventanilla nos permite incluir al Puercoespín tropical en la lista de presas potenciales del cocodrilo americano.

**Agradecimientos.**— Agradecemos a la Universidad del Mar por las facilidades logísticas prestadas y a la Sociedad Cooperativa Lagarto Real por el apoyo para las actividades de campo. JGG agradece el estímulo económico otorgado por el CONAHCyT. Finalmente, dos árbitros anónimos contribuyeron con sus comentarios a mejorar el presente trabajo.

## LITERATURA CITADA

- Alonso-Tabet, M., R. Ramos, R. Rodríguez-Soberón, J.B. Thorbjarnarson, J. Belliure & V. Berovides. 2014. Los Crocodylia de Cuba. Publicaciones Universidad de Alicante, San Vicente de Raspeig, España.
- Álvarez del Toro, M. 1974. Los Crocodylia de México (estudio comparativo). Instituto Mexicano de Recursos Naturales Renovables. México D.F., México.
- Caro, T. 2005. Antipredator defenses in birds and mammals. The Chicago University Press, Chicago, Illinois, USA.

- Casas-Andreu, G. & G. Barrios Quiroz. 2003. Hábitos alimenticios de *Crocodylus acutus* (Reptilia: Crocodylidae) determinados por el análisis de sus excretas en la costa de Jalisco, México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Autónoma de México, Serie Zoológica* 74:35-42.
- Cupul-Magaña, F.G., F. Mc Cann & A.H. Escobedo-Galván. 2015. Observación del consumo de presas en el cocodrilo americano (*Crocodylus acutus* Cuvier, 1807): registro fotográfico. *Quehacer Científico en Chiapas* 10:11-15.
- Curio, E. 1976. *The ethology of predation*. Springer Science & Business Media. New York, New York, USA.
- Dector-Cobos, S. J., A. González Romero & S. Albino-Miranda. 2023. Puercoespines: los rastafaris de la naturaleza. *Ciencia Hoy*. <https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/ct-menu-item-25/ct-menu-item-27/17-ciencia-hoy/2030-puercoespines-los-rastafaris-de-la-naturaleza> [Consultado el 21 de abril de 2024].
- Farris, S., M. Squires, J.S. Beauchamp & F. Mazzotti. 2015. *Crocodylus acutus* (American crocodile) diet. *Herpetological Review* 46: 85-86.
- Gallina-Tessaro, S. 2011. Técnicas para conocer la dieta. In: Gallina-Tessaro, S. & C. López-González (Eds.), *Manual de técnicas para el estudio de la fauna*. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. Querétaro, Querétaro, México.
- Hernández-Vázquez, S. 2001. Observaciones diurnas del cocodrilo de río *Crocodylus acutus* en el estero La Manzanilla, Jalisco, México. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas* 35:283-294.
- Juárez, J.R. 2005. *Coendu mexicanus* (Kerr, 1792) Puercoespín. Pp. 811-812 En G. Ceballos & G. Oliva (Eds.), *Los mamíferos silvestres de México*. Fondo de Cultura Económica, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F., México.
- Leopold, A.S. 1959. *Wildlife of Mexico: The game birds and mammals*. University of California Press. California, USA.
- McCann, F., A.H. Escobedo-Galván & F.G. Cupul-Magaña. 2022. Al mejor cazador se le va la presa: intentos fallidos de depredación del cocodrilo americano sobre la tortuga mesoamericana. *Herpetología Mexicana* 4:26-31.
- Parker, K.L., M.P. Gillingham, T.A. Hanley & C.T. Robbins. 1999. Energy and protein balance of free-ranging black-tailed deer in a natural forest environment. *Wildlife Monographs* 143:6-7.
- Platt, S., J.B. Thorbjarnarson, T.R. Rainwater & D.R. Martin. 2013. Diet of the American crocodile (*Crocodylus acutus*) in marine environments of coastal Belize. *Journal of Herpetology* 47:1-10.
- Thorbjarnarson, J.B. 1989. Ecology of the American crocodile, *Crocodylus acutus*. Pp. 229-259 In: *Crocodile, their ecology, management, and conservation*. IUCN Publications New Series. Gland, Switzerland.
- Vázquez, E., F. Reid & A.D. Cuarón. 2016. *Coendumexicanus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: eT20629A22214103. <https://www.iucnredlist.org/species/20629/22214103> [Consultado el 28 de mayo de 2024].
- Venegas-Anaya, M.D., V. Beltrán-López, A.H. Escobedo-Galván, L.D. Densmore & F.G. Cupul-Magaña. 2016. Mirmecofagia en *Crocodylus acutus* (Crocodylia: Crocodylidae) del Parque Nacional Coiba, Panamá. *Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle* 17:13-16.
- Villegas, A. & J.J. Schmitter-Sotto. 2008. Feeding habits of the American crocodile, *Crocodylus acutus* (Cuvier, 1807) (Reptilia: Crocodylidae) in the southern coast of Quintana Roo, Mexico. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)* 24:117-124.
- Webb, G., C.S. Manolis & R. Buckworth. 1982. *Crocodylus johnstoni* in the McKinlay river area, N.T.I. variation in diet, and a new method of assessing the relative importance of prey. *Austral Journal of Zoology* 30:877-899.





# THE RARE AND ELUSIVE *ENYALIOIDES GROI* (DUNN, 1933) (SQUAMATA: HOPLOCERCIDAE) IN PANAMA

## EL RARO Y ELUSIVO *ENYALIOIDES GROI* (DUNN, 1933) (SQUAMATA: HOPLOCERCIDAE) EN PANAMÁ

Ángel Sosa-Bartuano<sup>1,2\*</sup>, Pedro L. Castillo-Caballero<sup>3</sup>, Edgar Toribio<sup>4</sup> & Lilisbeth Rodríguez-Castro<sup>3,5</sup>

<sup>1</sup>Museo de Vertebrados de la Universidad de Panamá, Campus Octavio Méndez Pereira, Ciudad de Panamá, Panamá.

<sup>2</sup>Red Mesoamericana y del Caribe para la Conservación de Anfibios y Reptiles, San Cristobal de las Casas, Chiapas, México.

<sup>3</sup>Smithsonian Tropical Research Institute, Panama City, Panama.

<sup>4</sup>Guía de Turismo, Santa Fe, Veraguas, Panamá.

<sup>5</sup>Programa de Maestría en Microbiología Ambiental, Campus Octavio Méndez Pereira, Universidad de Panamá, Ciudad de Panamá, Panamá.

\*Correspondence: [asosaz983@gmail.com](mailto:asosaz983@gmail.com)

**Received:** 2023-10-18. **Accepted:** 2024-06-18. **Published:** 2024-08-20.

**Editor:** Alessandro Catenazzi, Perú.

The Neotropical iguanian lizard genus *Enyalioides* includes 19 species (Torres-Carvajal et al., 2023). These lizards are known from elevations below 1,874 m a.s.l. on both sides of the Andes between Panama, central Brazil and north of Bolivia, with species occurring in Peru (12), Ecuador (11), Colombia (6), Brasil (2), Panamá (2), and Bolivia (1) (Köhler, 2008; Arteaga et al., 2022; Uetz et al., 2023). Torres-Carvajal et al. (2011) list the characteristics of the genus *Enyalioides* and mention how it is distinguished from the genus *Hoplocercus*. In Panama, *E. groi* and *E. heterolepis* are present (Uetz et al., 2023), and *E. groi* differs from *E. heterolepis* in that its tail is equipped with regularly arranged whorls made up of enlarged spiky scales, which become increasingly smaller distally and are barely distinguishable at the tail tip (Köhler, 2008). Furthermore, the caudal scales of *E. heterolepis* are heterogeneous, increasing in size posteriorly in each whorl (6-8 scales in lateral view), and are not modified as conspicuous spines (Torres-Carvajal et al., 2011).

*Enyalioides groi* is a species recorded in very humid tropical mid-mountain undisturbed forests (between 600 to 1,300 m a.s.l.), (Corredor et al., 1985; Vásquez-Restrepo, 2021). It is a diurnal species, and forages on the ground between hollows and leaf litter, very close to its burrow (Köhler, 2008). It digs its burrows shallowly in the moist forest floor, under large rocks or thick hollow logs found along hillsides (Corredor et al., 1985; Köhler, 2003). Due to its restricted geographical distribution to mature forest it is currently listed as an Endangered species (EN) (Medina-Rangel et al., 2015; Ibáñez et al., 2016). In Panama this species was documented in two protected areas: Monumento Natural Cerro Gaital and Parque Nacional Altos de Campana (Dunn, 1933; Ibáñez et al., 1996; Köhler, 2008).

One male individual of *E. groi* (Fig. 1) was observed during on October 15th, 2022, on the ground, camouflaged among leaf litter on the west limits of Santa Fe National Park, Veraguas, Panama (8.5282° N, 81.1492° W; elevation 848 m a.s.l.; WGS 84 datum). The observation was done at 11:04 h, a day after strong rains in the region. The specimen was photographed and the photo voucher was deposited in the Digital Collection, The University of Texas at Austin (UTADC 9850a-e). The photographs show the vertebral region of the trunk without enlarged scales (Fig. 1A), the tail rings with enlarged spiny scales and with three rows of scales that separate the whorls of spines ventrally (Fig. 1B). The habitat is characterized by a plateau surrounded by sharp slopes leading to the creek of the 3rd arm of the Mulaba river. The forest is composed of large trees with a canopy reaching 30 to 40 m high and a dense understory with small palms and abundant ferns of the genus *Danae* and *Asplenium* covering the ground.

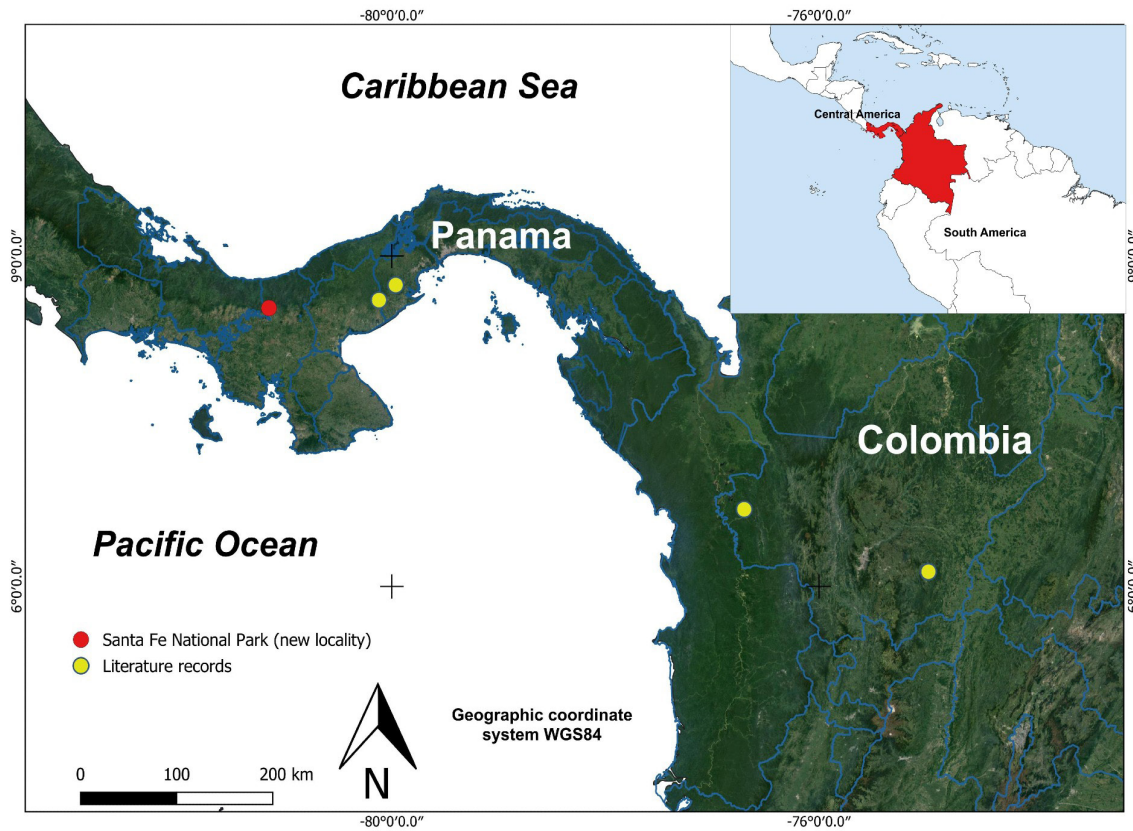
The behavior of this species is elusive, soon as they detect a threat, they quickly run to hide inside one of the caves they occupy (Dunn, 1933; Köhler, 2003); this is probably one of the reasons why this species remain undetected in fauna surveys not recorded during previous surveys in the area (Martínez & Rodríguez, 1992; Martínez et al., 1994; Lotzkat, 2014). This new locality is 112 km West of the nearest locality El Valle de Antón. In this note we extend the known distribution of the species westward in Central America, by reporting the first record in the provinces of Veraguas, Panama, Cordillera Central. This is the third known locality for the species in Panama, and the fifth in the Neotropical region (Table 1, Fig. 2; Dunn, 1933; Corredor et al., 1985; Ibáñez et al., 1996; Vásquez-Restrepo, 2021). The new location geographically belongs to the foothills of the Caribbean slope of the Cordillera Central (Autoridad Nacional del Ambiente, 2010).



**Figura 1.** Macho adulto de *Enyalioides groi* (UTADC 9850a-e) encontrado en un bosque primario en el Parque Nacional Santa Fe, Panamá. Vista dorsal (A) y lateral (B). Foto: Edgar Toribio.  
**Figure 1.** Adult male of *Enyalioides groi* (UTADC 9850a-e) found in a primary forest in Santa Fe National Park, Panama. Dorsal (A) and lateral (B) view. Photo: Edgar Toribio.

**Tabla 1.** Localidades conocidas para *Enyalioides groi* basadas en registros bibliográficos. Las coordenadas están en grados decimales.  
**Table 1.** Known localities for *Enyalioides groi* based on literature records. Coordinates are in decimal degrees.

Country	Province/ Department	Locality	Habitat	Latitude	Longitude	Elevation (m a.s.l.)	References
Panamá	Coclé	El Valle de Antón, Cerro Gaital		8.6	-80.12	600-900	Dunn 1933
Colombia	Antioquía	Dabeiba	Tropical wet forest	6.7	-76.7	805	Corredor et al. 1985
Panamá	Panamá Oeste	El Cacao, Cerro Trinidad		8.7371	-79.9626	600-900	Ibáñez et al. 1996
Colombia	Antioquía	San Carlos		6.1338	-74.9753	1,315	Vásquez-Restrepo 2021
Panamá	Veraguas	Santa Fe, National Park, trail Tercer Brazo of Río Mulaba	Premontane forest	8.5282	-81.1492	848	This work



**Figura 2.** Distribución geográfica conocida de *Enyalioides groi* (puntos amarillos), incluyendo el nuevo registro en el Parque Nacional Santa Fe (punto rojo).  
**Figure 2.** Known geographic distribution of *Enyalioides groi* (yellow points), including the new record in the Parque Nacional Santa Fe (red point).



The Santa Fe National Park is located in a region that in recent years has been impacted by deforestation, as well as by the migration of indigenous peoples from the Ngöbe Buglé Comarca to establish new settlements. Additionally, there are multinational mining companies installed in the Mesoamerican biological corridor (Batista et al., 2014; Ortiz et al., 2020); these may be threatening *E. groi*'s populations, so further research focused on long term monitoring and population status data is needed to clarify the current conservation status of this species in this area.

**Acknowledgements.**– We thank Adriel Sierra for the review and suggestions to the draft of the manuscript, and Gregory Pandelis for provided the voucher number.

## CITED LITERATURE

- Arteaga, A., L. Bustamante, J. Vieira & J.M. Guayasamin (Eds.). 2022. Reptiles of Ecuador: Life in the middle of the world. Universidad Tecnológica Indoamericana. Quito, Ecuador.
- Autoridad Nacional del Ambiente. 2010. Atlas ambiental de la República de Panamá. Primera versión. Editora Novo Art, S.A., Panamá, Panamá.
- Batista, A., C. A. Jaramillo, M. Ponce & A.J. Crawford. 2014. A new species of *Andinobates* (Amphibia: Anura: Dendrobatidae) from west central Panama. *Zootaxa* 3866:333-352.
- Corredor, V., J.M. Renjifo & S. Ayala. 1985. Discovery of *Morunasaurus groi* Dunn (Sauria: Iguanidae) in northwestern Colombia. *Journal of Herpetology* 19:162-164.
- Dunn, E.R. 1933. Amphibians and reptiles from El Valle de Antón, Panama. *Occasional papers of the Boston Society of Natural History* 8:65-79.
- Ibáñez, R.D., C. Jaramillo, F.A. Solís & F.E. Jaramillo. 1996. Inventario de anfibios y reptiles: Fase inicial para la conservación de estas especies en el Parque Nacional Altos de Campana. Informe Final, Fundación Natura.
- Ibáñez, R., C. Jaramillo, M.R. Castañeda, J. Renjifo, W. Bolívar & J. Velasco. 2016. *Morunasaurus groi*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016:e.T203070A2759787.
- Köhler, G. 2003. A new species of *Morunasaurus* from Peru (Reptilia, Squamata, Hoplocercidae). *Senckenbergiana Biologica* 82:235-242.
- Köhler, G. 2008. Reptiles of Central America. 2nd Edition. Offenbach: Herpeton Verlag. Germany.
- Lotzkat, S. 2014. Diversity, taxonomy, and biogeography of the reptiles inhabiting the highlands of the Cordillera Central (Serranía de Talamanca and Serranía de Tabasará) in western Panama. Tesis de Doctorado, Goethe-Universität. Frankfurt, Alemania.
- Martínez, V., & A. Rodríguez. 1992. Del primer inventario en Cerro Tute. Amphibia: Caudata y Anura. Reptilia: Squamata. Sauria y Serpentes. *Scientia (Panamá)* 7:29-53.
- Martínez, V., N. Pimentel, & A. Hurdaneta. 1994. Diversidad herpetofaunística en los Cerros Narices y La Anselma, Provincia de Veraguas. Distrito de Santa Fe. *Scientia (Panamá)* 9:59-79.
- Medina-Rangel, G.F., Y.R. López-Perilla & J.M. Renjifo. 2015. *Morunasaurus groi* (Dunn, 1933). pp. 65-67. En M.A. Morales-Betancourt, C.A. Lasso, V.P. Páez & B.C. Bock (Eds.). Libro Rojo de Reptiles de Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt – Universidad de Antioquia, Bogotá, Colombia.
- Ortiz, O., Y.M. de Niño, U.V. Cusatti, V.D.L.C. Cabrera & A. Lanuza-Garay. 2020. Situación Actual de las Áreas Protegidas en la Provincia de Colón, Panamá: Marco Descriptivo para una Mejor Gestión y Manejo. *Tecnociencia* 22:151-174.
- Torres-Carvajal, O., R. Etheridge & K. De Queiroz, 2011. A systematic revision of Neotropical lizards in the clade Hoplocercinae (Squamata: Iguania). *Zootaxa* 2752:1-4.
- Torres-Carvajal, O., F. P. Werneck, I.Y. Fernandes & K. de Queiroz. 2023. Spiny tails and clades: a fully sampled phylogeny of hoplocercine lizards (Iguanidae/Hoplocercinae) and its taxonomic and nomenclatural implications. *Bulletin of Phylogenetic Nomenclature* 1:8-28.
- Uetz, P., P. Freed, R. Aguilar, F. Reyes, J. Kudera & J. Hošek. 2024. The Reptile-Database. Available at <https://reptile-database.org> [Consulted on March 30, 2024]
- Vásquez-Restrepo, J.D. 2021. 35 years behind the scenes: range extension of the rare Gro's mantichore, *Morunasaurus groi* (Squamata, Hoplocercidae), in Colombia. *Papéis Avulsos de Zoologia* 61:e20216163.



# COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE LA RANA DE CRISTAL *HYALINOBATRACHIUM TATAYOI* (ANURA: CENTROLENIDAE) EN UNA POBLACIÓN DE LOS ANDES COLOMBIANOS

## REPRODUCTIVE BEHAVIOR OF THE GLASS FROG *HYALINOBATRACHIUM TATAYOI* (ANURA: CENTROLENIDAE) IN A POPULATION IN THE COLOMBIAN ANDES

Maribel Rojas-Montoya<sup>1\*</sup>, Yelenny López-Aguirre<sup>1</sup>, Cristian González-Acosta<sup>1</sup> & Fernando Vargas-Salinas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Evolución, Ecología y Conservación (EECO), Programa de Biología, Universidad del Quindío, Carrera 15 Calle 12 Norte, Armenia 630001, Quindío, Colombia.

\*Correspondence: rojasm53@gmail.com

Received: 2024-02-23. Accepted: 2024-06-30. Published: 2024-08-23.

Editor: Anyelet Valencia-Aguilar, Colombia.

**Abstract.**— We monitored the reproductive behavior of the glass frog *Hyalinobatrachium tatayoi* in a population in the Central cordillera of Colombia. We described the calling site of males, courtship behavior, amplexus, oviposition, and mating pattern. We also compared our results with those of a similar study conducted 30 years ago in a population in Panama. During 21 field trips between July and December 2022, we recorded 85 males and 89 females from the ground to heights around 5 m. In *H. tatayoi*, males predominantly called from both the lower and upper side of the leaves, and courtship lasted for more than 30 minutes. When a male attracts a female, he begins to emit advertisement and courtship calls while she moves around and touches him multiple times with her limbs and body. During this courtship, the male does not attempt to force the amplexus. The amplexus is axillary, and the male covers the eggs with his body shortly after oviposition. Male mating success increased with the number of nights they were active in their territory, but was unrelated to their body size and the average height of the substrate in which they were recorded. This is a recurring finding in studies on the reproductive behavior of Centrolenidae. Future studies are needed to determine whether females, or even males, discriminate among potential mates. Comparing our results with those obtained in the previously studied Panamanian population, we did not find any intra-specific geographic variation in the reproductive behavior of *H. tatayoi*.

**Keywords.**— Anurans, animal behaviour, glass frogs, sexual selection, intraspecific geographic variation.

**Resumen.**— Monitoreamos el comportamiento reproductivo de la rana de cristal *Hyalinobatrachium tatayoi* en una población de la cordillera Central de Colombia. Describimos el sitio de canto de los machos, el comportamiento de cortejo, amplexo, oviposición y el patrón de apareo. Además, comparamos nuestros resultados con los obtenidos en un estudio similar realizado hace 30 años en una población de Panamá. Durante 21 salidas de campo realizadas entre julio y diciembre de 2022, registramos 85 machos y 89 hembras desde el suelo hasta alturas alrededor de 5 m. En *H. tatayoi*, los machos cantan desde el envés o el haz de hojas y el cortejo dura más de 30 min; cuando un macho atrae una hembra, empieza a emitir cantos de anuncio y cortejo mientras que ella se mueve a su alrededor o incluso lo toca en varias ocasiones con sus extremidades y cuerpo. Durante el cortejo, el macho no intenta forzar el amplexo. El amplexo es axilar y el macho cubre con su cuerpo los huevos pocos minutos después de la oviposición. El éxito de apareo de los machos se incrementó con el número de noches que ellos estuvieron activos en su territorio, pero no se relacionó con su tamaño corporal ni con la altura promedio del sustrato en el cual fue registrado. Este es un resultado recurrente en estudios de comportamiento reproductivo en Centrolenidae. Futuros estudios son necesarios para determinar si las hembras, o incluso los machos, discriminan

entre potenciales parejas. Al comparar nuestros resultados con los obtenidos en la población panameña estudiada previamente, no detectamos variación geográfica intraespecífica en el comportamiento reproductivo de *H. tatayoi*.

**Palabras clave.**— Anuros, comportamiento animal, ranas de cristal, selección sexual, variación geográfica intraespecífica.

## INTRODUCCIÓN

La familia Centrolenidae está constituida por más de 160 especies distribuidas en el Neotrópico, con hábitos arbóreos y nocturnos (Frost, 2024). Estas especies son conocidas comúnmente como ranas de cristal debido a su vientre translúcido (Kubicki, 2007), lo cual se ha interpretado como una estrategia antidepredatoria basada en camuflaje (Barnett et al., 2020; Taboada et al., 2022). La reproducción de las ranas de cristal está asociada a cuerpos de agua lóticos; los machos cantan desde la vegetación o sustratos rocosos para atraer a las hembras (Cisneros-Heredia & McDiarmid, 2007). Dependiendo de la especie, las hembras ovipositan en sustratos vegetales o rocosos sobre el agua (Cisneros-Heredia & McDiarmid, 2007; Duarte-Marín et al., 2022). La estructura de la puesta, el número de huevos por puesta y el tiempo que los embriones permanecen en el huevo antes de caer al agua donde terminan su desarrollo como larvas de natación libre, puede variar entre especies y acorde a condiciones ambientales de temperatura, humedad y riesgos de mortalidad (Delia et al., 2014; 2020). Aunque se conocen aspectos generales de la ecología reproductiva de las ranas de cristal, solo en pocas especies se ha documentado en detalle el comportamiento de los individuos en aspectos tales como patrón de apareo, selección de sitio de oviposición, tasas y causas de mortalidad en puestas, plasticidad en cuidado parental, homing y encuentros agonísticos entre machos (e.g., *Centrolene savagei*: Vargas-Salinas et al., 2014; Ospina-L et al., 2017, 2020; Navarro-Salcedo et al., 2021; *Espadarana prosoblepon*: Jacobson, 1985; Krohn & Voyles, 2014; Basto-Riascos et al., 2017; Goyes Vallejos et al., 2021; Gómez-Murcia et al., 2024; *Hyalinobatrachium fleischmanni*: Jacobson, 1985; Delia et al., 2013, 2014; *H. valerioi*: Vockenhuber et al., 2008, 2009; Mangold et al., 2015; *Ikakogi tayrona*: Bravo-Valencia & Delia, 2016; Navarro-Salcedo et al., 2022; *Nymphargus grandisonae*: Hütter et al., 2013a; Guevara-Molina & Vargas-Salinas, 2014; Villegas-Mora et al., 2020; *Teratohyla spinosa*: Ortiz-Ross et al., 2020).

Información detallada del comportamiento de los individuos y características de historia natural de las ranas de cristal han sido importantes para entender la evolución de señales de comunicación (Escalona et al., 2019; Mendoza-Henao et al., 2022), de cuidado parental (Delia et al., 2017; 2020) y patrones

de diversidad (Hütter et al., 2013b; Castroviejo-Fisher et al., 2014) en anuros y vertebrados en general. Dicha información también ha sido fundamental en la delimitación de especies y el descubrimiento de diversidad críptica en Centrolenidae (e.g., Arcila-Pérez et al., 2017; Rada et al., 2019; Montilla et al., 2023). Sin embargo, poco se ha estudiado sobre variación geográfica intraespecífica del comportamiento reproductivo en las ranas de cristal (Basto-Riascos et al., 2017). Variación geográfica intraespecífica es común en anuros (Wilczynski & Ryan, 1999; Morrison & Hero, 2003; Pröhl et al., 2007; González-Acosta et al., 2023) y su estudio en ranas de cristal es importante, ya que es una aproximación comparativa que permite documentar y entender causas de divergencia entre poblaciones (Luyten & Liley, 1985; Coyne & Orr, 2004). Una de las pocas especies de ranas de cristal para las cuales se ha evaluado la presencia de variación geográfica intraespecífica en señales acústicas y selección de sitio de canto por machos es *Hyalinobatrachium tatayoi* (Delia et al., 2010; Rojas-Montoya et al., 2024). Dada su amplia distribución geográfica y su presencia en ecosistemas contrastantes, esta especie ofrece la oportunidad de documentar aspectos de historia natural y comportamiento reproductivo que pudiesen diferenciarse entre poblaciones.

Los cantos de anuncio y cortejo parecen no variar significativamente entre poblaciones de *H. tatayoi* (Rojas-Montoya et al., 2024). Sin embargo, no se ha evaluado si hay o no variación geográfica intraespecífica con respecto a factores que pudiesen determinar el éxito de apareo de los machos. En una población de *H. tatayoi* en Panamá, se registró que los machos que cantaban desde sustratos por encima de los 0.6 m lograban atraer más hembras que aquellos machos que cantaban desde sustratos a alturas inferiores o iguales a 0.6 m (Greer & Wells, 1980). Este patrón de apareo se atribuye a que machos de *H. tatayoi* cantan predominantemente desde el envés de hojas, y mucha de la energía contenida en su canto de anuncio se refleja hacia el suelo cuando incide en la superficie de la hoja; así, el canto de anuncio de los machos en hojas altas (> 0.6 m) tiene un espacio activo mayor que el canto de anuncio emitido por machos desde hojas a poca altura (Wells & Schwartz, 1982). Además de lo anterior, el éxito de apareo de los machos en la

población de Panamá, se relaciona positivamente con el número de noches que ellos permanecen activos en su territorio, pero no con su tamaño corporal (Greer & Wells, 1980). Si este patrón de apareo y sus posibles causas son similares en otras poblaciones de *H. tatayoi* es desconocido.

En este estudio, monitoreamos el comportamiento reproductivo de machos y hembras de *H. tatayoi* en una población ubicada en el departamento del Quindío, cordillera Central de Colombia. Específicamente, describimos el tipo y altura de sustrato desde el cual cantan los machos, el comportamiento de cortejo y cómo el éxito de apareo de los machos se relaciona con el número de noches activo en el territorio, su tamaño corporal y la altura del sustrato en el cual fueron registrados. La información presentada en este estudio abarca aspectos conductuales y de historia natural que son importantes para conocer en detalle cómo podría variar geográficamente la ecología reproductiva de especies en Centrolenidae tomando como modelo de estudio a *H. tatayoi*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Especie y área de estudio

*Hyalinobatrachium tatayoi* es una rana de cristal de tamaño corporal (longitud hocico-cloaca, LHC) pequeño (machos adultos = 21-24.4 mm, hembras adultas = 21.9-22.2 mm) (Castroviejo-Fisher et al., 2007; Barona-Cortés & Mendoza-Henao, 2022). Algunas poblaciones de esta especie fueron clasificadas como *H. fleischmanni* por varios años, pero recientemente han sido asignadas a *H. tatayoi* con base en evidencia molecular, características de canto y morfología (Mendoza-Henao et al., 2020). Actualmente, se considera que *H. tatayoi* se distribuye desde el nivel del mar hasta aproximadamente 1,760 m s.n.m. en bosques secos y húmedos perturbados desde el sur de Costa Rica hasta Ecuador y Venezuela (Castroviejo-Fisher et al., 2007; Mendoza-Henao et al., 2020).

Este estudio lo realizamos en un transecto de 105 m establecido en el arroyo “La Arboleda”, ubicada en la finca Villa Chela (Fig. 1), conjunto campestre El Amanecer (4.4456° N, 75.8245° W; 1,196 m s.n.m.), municipio de La Tebaida, departamento del Quindío, cordillera Central de Colombia. En el área de estudio predominan viviendas rurales, pastizales y relictos de bosque ripario (Fig. 1); la temperatura varía entre 16.7 °C y 28.2 °C, la precipitación promedio anual es de 1,823 mm y la humedad relativa promedio es < 80 % (Weather Spark, 2023; Worldclim, 2023). Durante este estudio, el ancho del arroyo en el transecto muestreado varió, acorde al nivel de lluvias, entre 0.5 y 3.65 m y la profundidad entre 0.10 y 0.80 m. El sustrato del arroyo es

predominantemente rocoso con alta acumulación de material orgánico en algunos recodos y sitios con poca corriente.

### Metodología

Entre julio 22 y diciembre 16 de 2022 realizamos 21 salidas de campo, cada una con una duración de una noche y separada de la anterior y la siguiente por 5 ó 6 noches. A lo largo del transecto realizamos recorridos que iniciaron al atardecer (18:00 h) y continuaban, acorde al nivel de actividad de *H. tatayoi*, hasta las 03:00-06:30 h (inicio del amanecer). Cuando un individuo fue capturado, registramos su tamaño corporal (LHC) con un calibrador digital ( $\pm 0,01$  mm) y su peso con una balanza de precisión (Triple Clean BAL01 con  $\pm 0,01$  g). Además, registramos el sexo, la altura del sustrato con una cinta métrica y el tipo de sustrato (hoja, rama, hojarasca, piedra) en el cual se encontraba el individuo. El sustrato donde los individuos fueron observados por primera vez o recapturados, se marcó con una cinta roja y un código asociado a información de fecha de registro e identidad del individuo. El sexo de los individuos lo determinamos con base en su comportamiento de canto y posición durante el amplexo (machos) o la presencia de oocitos en el vientre (hembras). Utilizamos la técnica de corte de falanges (Donnelly et al., 1994; Ferner, 2010) para identificar a cada individuo entre las capturas y recapturas a lo largo del estudio. Algunos individuos reanudaron su comportamiento de canto o amplexo después de ser codificados (corte de falanges) y liberados (*obs. pers.*). El material biológico obtenido durante el corte de falanges se guardó en tubos eppendorf con alcohol al 96 % y posteriormente, fue refrigerado (Crawford & Paz, 2017) en la Colección de Anfibios y Reptiles de la Universidad del Quindío (ARUQ), Colombia. Las variables registradas en este estudio son reportadas, cuando aplica, como valor promedio  $\pm$  desviación estándar y rango en paréntesis.

### Comportamiento de cortejo y amplexo

Cuando observamos eventos de cortejo registramos la fecha, hora y utilizamos luz roja para minimizar efectos por perturbación lumínica en el comportamiento de los individuos. Sin embargo, esporádicamente hicimos registros fotográficos y videos con luz blanca. Durante los monitoreos a los cortejos registramos aspectos generales de actividad de canto del macho y movimientos corporales de él y la hembra. Después de 30 min de monitorear un cortejo, si los individuos no habían formado un amplexo, procedimos a capturarlos y registrar su identidad, tamaño corporal, peso, altura y tipo de sustrato en que fueron observados. En la mayoría de los casos en que observamos individuos en amplexo, los capturamos para registrar las variables mencionadas anteriormente. Posteriormente, liberamos a los individuos en el sitio exacto de captura.

### Patrón de apareo

Para evaluar si el éxito de apareo de un macho está determinado por eventos estocásticos o, por el contrario, está influenciado por algún factor determinístico, realizamos una regresión lineal múltiple. En este análisis, la variable dependiente fue el éxito de apareo del macho, que fue cuantificado con base en el número de hembras amplexadas a lo largo de todo el muestreo. Aunque en *H. tatayoi* hay atención de las puestas por parte de los machos, no utilizamos estos registros en el cálculo de éxito de apareo, como sí se ha utilizado en estudios previos con ranas de cristal (e.g., Ospina et al., 2017). Esto debido a que observamos más de un amplexo en una misma hoja o en hojas adyacentes (ver sección de resultados) lo que limitó asignar la paternidad de una puesta con base en la ubicación dentro del territorio de un macho. Además, no fue factible controlar o descartar la posible presencia de cuidado aloparental (Valencia-Aguilar et al., 2021). Las variables independientes en la regresión lineal múltiple fueron: número de noches que el macho estuvo activo en su territorio, altura promedio del sustrato en que fue registrado

el macho y tamaño corporal. Este análisis de regresión lineal múltiple se realizó después de corroborar que las variables independientes no estaban correlacionadas entre sí (Whitlock & Schuller, 2014). Dado que frecuentemente recapturamos un mismo macho en sustratos a diferente altura y esto podría influir en las probabilidades de atraer alguna hembra (Greer & Wells, 1980), también realizamos un análisis de modelo lineal mixto como complemento a la regresión lineal múltiple mencionada. En este modelo lineal mixto incluimos la identidad de los machos como variable aleatoria y los datos de altura del sustrato asociados a cada registro de un mismo macho; tamaño corporal siguió siendo una variable independiente y el éxito de apareo fue nuestra variable dependiente. En algunos casos (ocho de 251 registros) no registramos la altura del sustrato en el cual observamos a un macho en determinada salida de campo; en estos casos, reemplazamos el vacío de información con el valor promedio de altura de sustrato, calculado a partir de registros para el mismo macho en otras salidas de campo. Esto evitó tener que suprimir del análisis mixto esos ocho registros (uno por macho).



**Figure 1.** Satellite image of the study area: El Amanecer rural complex, municipality of La Tebaida, department of Quindío, cordillera Central of Colombia (A). The green line indicates the location of a 105 m transect established in the La Arboleda stream and the white square indicates the location of Finca Villa Chela. Picture of the stream in which samplings were performed (B). The white arrows highlight red flagging used to indicate sites where individuals were recorded.

**Figura 1.** Imagen satelital del área de estudio: conjunto campestre El Amanecer, municipio de La Tebaida, departamento del Quindío, cordillera Central de Colombia (A). La línea recta verde indica la ubicación de un transecto de 105 m establecido en el arroyo La Arboleda y el cuadrado blanco señala la ubicación de la Finca Villa Chela. Fotografía del arroyo La Arboleda en el cual se realizaron los muestreos (B). Las flechas blancas señalan cintas rojas utilizadas para marcar la ubicación de los individuos registrados.



Por otro lado, evaluamos si había relación entre el tamaño corporal del macho y la hembra en amplexo. Dado que un mismo individuo puede aparearse en varias ocasiones, evaluamos esta relación de tamaño corporal con un modelo lineal mixto. La identidad de los machos fue considerada como la variable “aleatoria”. Los análisis mencionados los realizamos en los programas SPSS v.26 (IBM Corp. Released, 2019) y en el paquete “Lme4” y la función lmer (Bates et al., 2023) en R 4.3.0 (R Development Core Team, 2023).

## RESULTADOS

Registramos 85 machos adultos con un tamaño corporal promedio de 22.66 mm  $\pm$  1.05 (rango = 20.49-24.98 mm) y 89 hembras adultas con un tamaño corporal promedio de 23.72 mm  $\pm$  0.89 (rango = 21.50-25.93 mm). En promedio, registramos un mismo macho 2.95 veces  $\pm$  2.33 (rango = 1-10 veces) (Fig. 2A), y el tiempo entre la captura y la primera recaptura fue de 21.90 días  $\pm$  15.03 (rango = 6-78 días,  $N = 53$  machos). En cuanto a las hembras, una misma hembra la registramos en promedio 1.21 veces  $\pm$  0.49 (rango = 1-3 veces) (Fig. 2B), y el tiempo entre la captura y la primera recaptura fue de 38.38 días  $\pm$  17.22 (rango = 15-70 días,  $N = 16$ ).

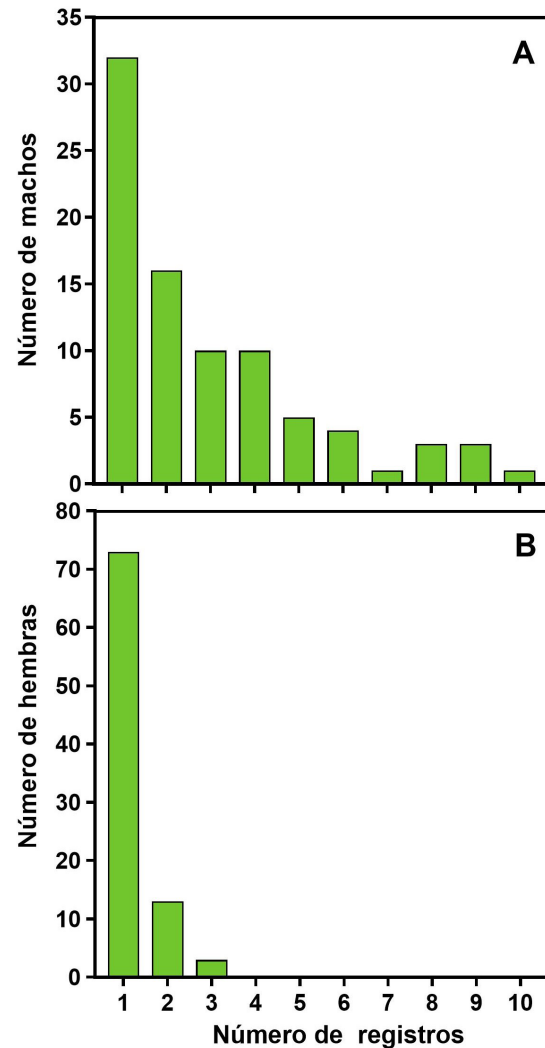
### Microhábitat y sitio de canto en machos

Todos los individuos fueron registrados en hojas. La altura promedio en la cual registramos los machos fue de 1.79 m  $\pm$  0.68 (rango = 0.0-4.0 m,  $N = 85$ ) mientras que, para las hembras fue de 1.74 m  $\pm$  0.71 (rango = 0.35-4.0 m;  $N = 89$ ). Los machos cantaron desde el envés o el haz de hojas. También observamos que los machos tendían a permanecer en una misma área del arroyo, aunque dentro de ella podían desplazarse pequeñas distancias (< 6 m), ubicarse en ambos bordes del arroyo o desplazarse verticalmente y cantar desde hojas a diferente altura.

### Comportamiento de cortejo

Registramos seis eventos de cortejo en detalle (Fig. 3). Cuatro de estos cortejos fueron registrados inicialmente en el envés de hojas a una altura de 1.84 m  $\pm$  0.31 (rango = 1.65-2.30 m) y dos en el haz de hojas a una altura de 1.39 m  $\pm$  1.11 (0.6-2.17m). Durante el cortejo, el macho emitía cantos de anuncio y cantos de cortejo; los cantos de cortejo se incrementaron en frecuencia de emisión a medida que una hembra se acercaba al macho. Observamos que la hembra podía acercarse y alejarse libremente del macho, o posicionarse cerca de él sin que el macho exhibiera un intento de amplexarla (Apéndice 1). La hembra hacía contacto físico con el macho e incluso, en algunos momentos se subía a su dorso en una posición que simulaba un amplexo o se ubicaba de tal forma que la cabeza de la hembra quedaba hacia la cloaca del macho.

La hembra también se ubicaba frente al macho, posicionando la parte posterior de su cuerpo en contacto con la cabeza de él, quien continuaba cantando sin intentar subirse al dorso de ella. Estos comportamientos se repitieron por un tiempo aproximado de 30 minutos (Apéndice 1). Durante los muestreos observamos otros eventos de cortejo, pero en sustratos muy altos y de difícil acceso, lo que no permitió monitorearlos en detalle.



**Figure 2.** Number of records (capture + recaptures) for 85 males (A) and 89 females (B) of the glass frog *Hyalinobatrachium tatayoi* during weekly surveys conducted between 22 July and 16 December 2022. Note that a Number of records = 1 indicates that the individual was captured and tagged, but on no occasion was it recaptured.

**Figure 2.** Número de registros (captura + recapturas) para 85 machos (A) y 89 hembras (B) de la rana de cristal *Hyalinobatrachium tatayoi* durante monitoreos semanales realizados entre el 22 de julio y el 16 de diciembre de 2022. Nótese que un Número de registros = 1 indica que el individuo fue capturado y marcado, pero en ninguna ocasión fue recapturado.

En dos ocasiones registramos un macho cortejando dos hembras simultáneamente. En el primer evento (septiembre 2 de 2022: envés de hoja a 2.30 m de altura), un macho se encontraba en medio de dos hembras, cada una a menos de 5 cm de él. Este macho emitió numerosos cantos de cortejo durante un poco más de 30 minutos; después, una de las hembras se alejó saltando a la vegetación adyacente, pero el macho continuó emitiendo cantos. Interrumpimos nuestras observaciones antes de poder determinar si el macho amplexó a la hembra que se mantuvo a su lado. El segundo evento sucedió en diciembre 3 de 2022 en el envés de una hoja a > 3 m de altura (Fig. 3D). La dinámica conductual del macho y las hembras fue similar a la descrita para el primer evento. En este evento de cortejo, tampoco registramos si el macho amplexó a alguna de las hembras, pero al día siguiente en horas de la mañana (07:30 h) observamos una puesta en el sitio donde registramos el cortejo.

### Amplexo y ovoposición

Observamos 72 amplexos a una altura de  $1.76 \text{ m} \pm 0.81$  (rango = 0.20-4.00 m). Estos amplexos fueron registrados inicialmente en el haz o envés de hojas de guadua, aráceas y musáceas. Los amplexos fueron registrados por primera vez entre las 18:40 y 6:15 h. El número de amplexos registrados en una misma noche varió entre 1 y 13. Hubo tres zonas del arroyo en que el número de amplexos fue relativamente alto. En algunos casos, observamos más de un amplexo en una misma hoja (Fig. 4A). Registramos 28 amplexos en vegetación sobre el agua del arroyo, 25 amplexos en vegetación sobre el borde del arroyo y 18 amplexos en vegetación sobre tierra a máximo dos metros de distancia del curso del agua. Fue frecuente observar machos cerca de una o más puestas, e incluso observamos una pareja en amplexo cerca de dos puestas con embriones en distintos estadios de desarrollo (Fig. 4B-D).

En total, observamos 39 machos en amplexo; 16 de estos machos se registraron en amplexo en más de una ocasión. Nueve

hembras fueron registradas dos veces en amplexo con machos diferentes (promedio número de días transcurridos entre registros: 44.67, rango: 28 – 70 días) y una hembra se encontró amplexada en dos ocasiones con el mismo macho (35 días de diferencia entre las dos observaciones). Para estas diez hembras, el tiempo promedio transcurrido entre el primer amplexo y el segundo amplexo fue de  $42.33 \text{ días} \pm 16.58$  (28 - 70 días).

Sólo en una ocasión monitoreamos un amplexo hasta la oviposición. El amplexo lo observamos por primera vez a las 00:08 h, en el envés de una hoja a 2.0 m de altura sobre el agua. En repetidas ocasiones, el macho y la hembra alzaban levemente la cloaca (Fig. 5A), en otras ocasiones lo hacía solo el macho. En algunos momentos, ambos individuos realizaban giros parcialmente sincronizados, por lo general sobre su propio eje. La oviposición inició a las 02:11 h. Posteriormente, el macho soltó a la hembra, ella se movió hacia un costado y se alejó del sitio de oviposición (2:27 – 2:32 h) mientras que, el macho permaneció cubriendo los huevos con su cuerpo (Fig. 5B-D).

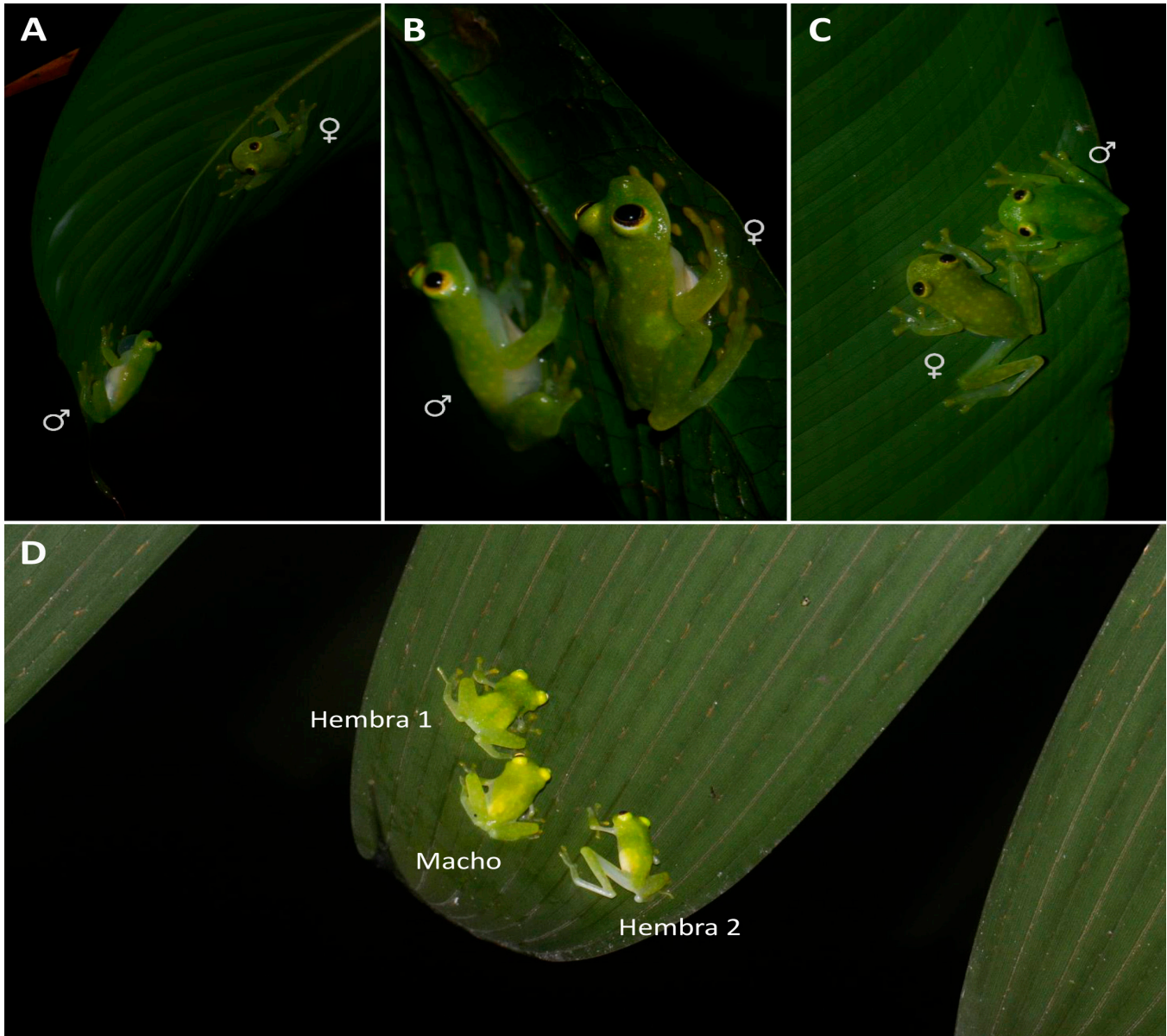
### Patrón de apareo

De los 85 machos registrados, 46 (54.1 %) no se observaron en amplexo en ninguna ocasión; 39 machos (45.9 %) los registramos entre una y seis veces en amplexo (Fig. 6). Los resultados del análisis de regresión lineal múltiple (Fig. 7) indican que el éxito de apareo de los machos se asoció positivamente con el número de registros de un macho en su territorio ( $R^2=0.57$ ,  $\beta = 0.77$ ,  $t = 10.36$ ,  $P < 0.001$ ) pero no con la altura promedio del sitio de registro ( $R^2= 0.024$ ,  $\beta = 0.103$ ,  $t = 1.41$ ,  $P = 0.162$ ) ni con su tamaño corporal ( $R^2=0.010$ ,  $\beta = -0.067$ ,  $t = -0.902$ ,  $P = 0.370$ ). Los resultados del modelo lineal mixto son similares a los encontrados en esta regresión lineal múltiple (Tabla 1). Por otro lado, el tamaño corporal del macho y la hembra en amplexo no estuvo correlacionado ( $t = 0.89$ ,  $P = 0.39$ ).

**Table 1.** Results of the linear mixed model analysis used to evaluate the potential relationship between male mating success with the substrate height at which each recording of the same male was made, the male's body size (snout-vent length: SVL), and the number of recordings for each male.

**Tabla 1.** Resultados del modelo lineal mixto utilizado para evaluar la posible relación entre el éxito de apareo de los machos con la altura de sustrato en el cual se realizó cada registro de un mismo macho, el tamaño corporal del macho (Longitud hocico-cloaca: LHC) y número de registros para cada macho.

VARIABLES	ESTIMADO	ERROR ESTÁNDAR	GRADOS DE LIBERTAD	t-valor	P-valor
Intercepto	1.73	1.6	113.75	1.08	0.28
Altura de sustrato (m)	-0.08	0.07	236.81	-1.06	0.29
Tamaño corporal del macho (mm)	-0.07	0.07	113.51	-0.95	0.34
Número de registros por macho	0.16	0.03	236.95	4.98	< 0.001



**Figure 3.** Courtship events in the glass frog *Hyalinobatrachium tatayoi*. Male emitting an advertisement and courtship call in the direction of an approaching female (A); female standing next to a male (B); female making physical contact with the male during courtship (C); two females attracted by the male at the same time (D).

**Figura 3.** Eventos de cortejo en la rana de cristal *Hyalinobatrachium tatayoi*. Macho emitiendo canto de anuncio y de cortejo en dirección a una hembra aproximándose a él (A); hembra ubicada al costado de un macho (B); hembra haciendo contacto físico con el macho durante el cortejo (C); dos hembras que fueron atraídas por el mismo macho de forma simultánea (D).

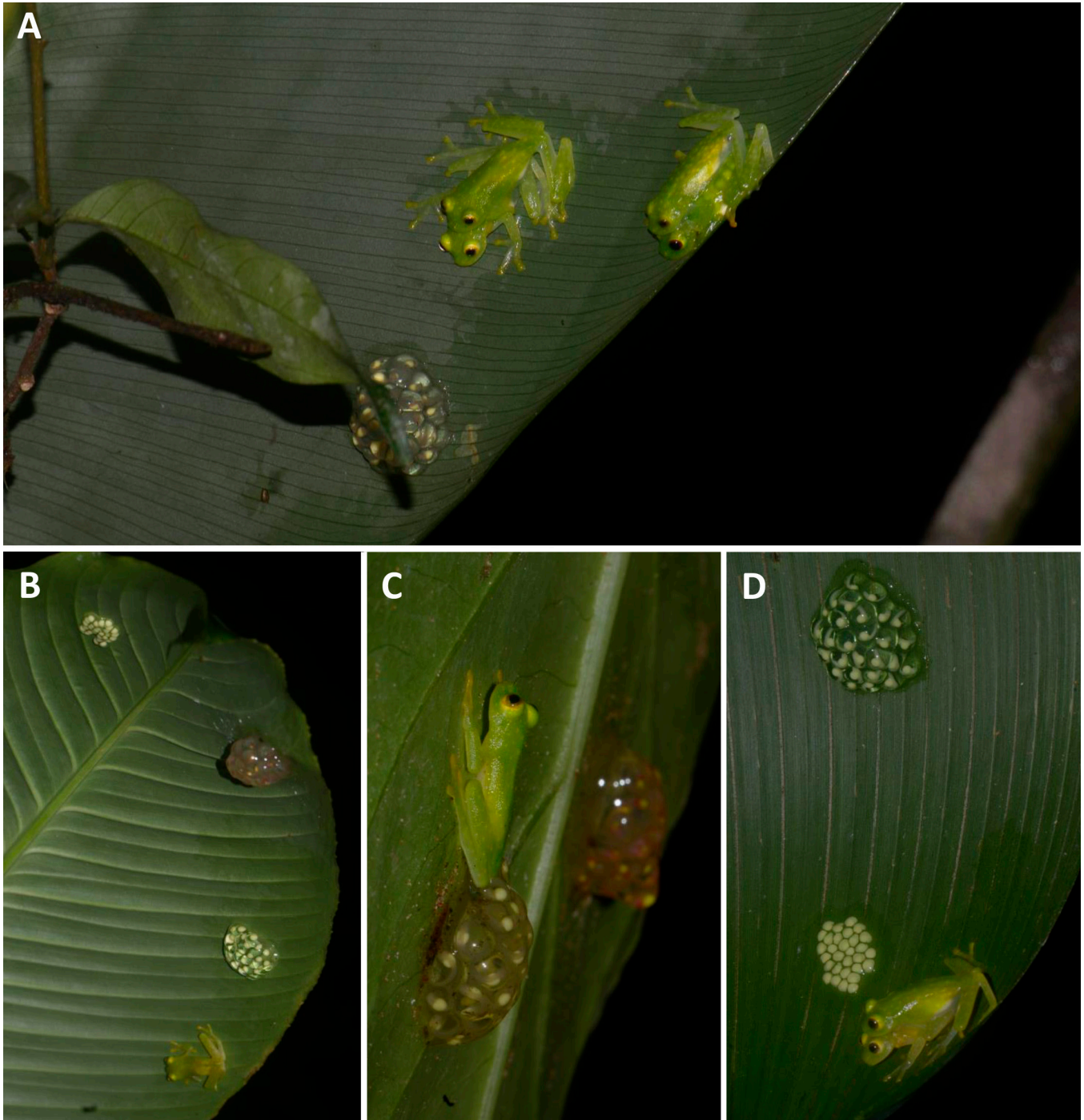
## DISCUSIÓN

Durante seis meses de muestreo, registramos en detalle el comportamiento de reproducción en la rana de cristal *H. tatayoi*. Nuestro análisis indica que el éxito de apareo de los machos se incrementa con el número de noches en que ellos están activos en su territorio, pero no se relaciona con su tamaño corporal

ni con la altura promedio del sustrato en el que se encuentran activos.

### Microhábitat y sitio de canto en machos

Los machos cantaron desde el envés y el haz de hojas. La misma tendencia fue registrada en una población de *H. tatayoi* estudiada en Panamá (Greer & Wells, 1980). En otras especies



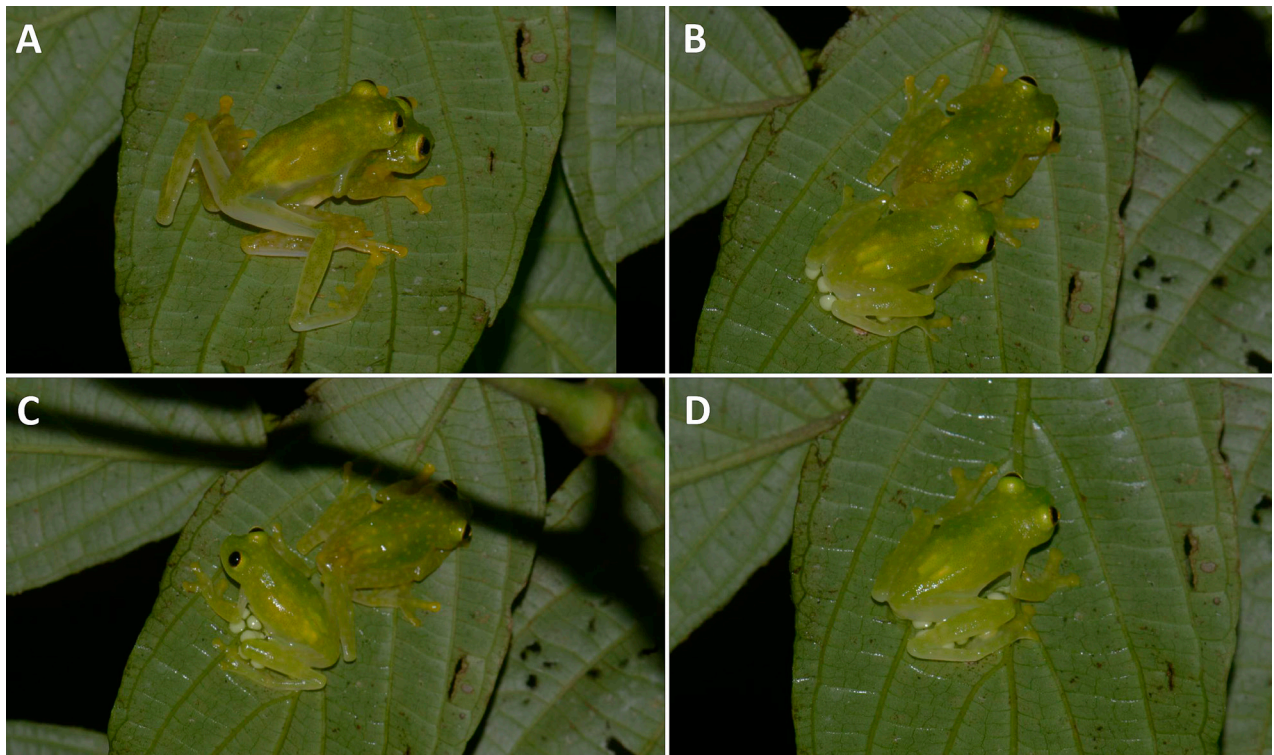
**Figure 4.** Record of two amplexuses occurring at the same time on the same leaf (A); note the presence of an egg clutch with embryos at developmental stage 24 (*sensu* Gosner, 1960; Salazar-Nicholls & Del Pino, 2015). Images of males (B,C) and an amplexus (D) near various clutches with embryos at different stages of development.

**Figura 4.** Registro de dos amplexos sucediendo al mismo tiempo en una misma hoja (A); nótese la presencia de una puesta de huevos con embriones en estadio de desarrollo 24 (*sensu* Gosner, 1960; Salazar-Nicholls & Del Pino, 2015). Imágenes de machos (B,C) y un amplexo (D) cerca de varias puestas con embriones en diferente estadio de desarrollo.

de Centrolenidae, los machos cantan exclusivamente desde el haz de hojas (e.g., *Centrolene savagei*: Vargas-Salinas et al., 2014; Ospina-L et al., 2017; Prado-Sañudo et al., 2018; *Espadarana prosoblepon*: Jacobson, 1985; McCaffery & Lips, 2011; Basto-Riascos et al., 2017; Goyes Vallejos & Ramirez-Soto, 2020) o desde el envés de las hojas (*Centrolene daidaleum*: Cardozo-Urdaneta & Señaris, 2010; *Cochranella erminea*: Torres-Gastello et al., 2007; *Hyalinobatrachium iaspidiense*: Castroviejo-Fisher et al., 2011). De acuerdo con Delia et al. (2010) en poblaciones de especies del complejo *H. fleischmanni* donde el riesgo de depredación por murciélagos es alto, los machos tienden a cantar desde el envés de hojas; por el contrario, donde dicho riesgo es bajo, se espera que los machos canten desde el haz de las hojas. Nosotros no registramos depredación por murciélagos en machos de *H. tatayoi*. Es posible que la variabilidad en el sitio de canto que registramos en *H. tatayoi* sea una respuesta de los machos a su percepción de riesgo de depredación, pero este aspecto requiere ser comprobado en futuros estudios.

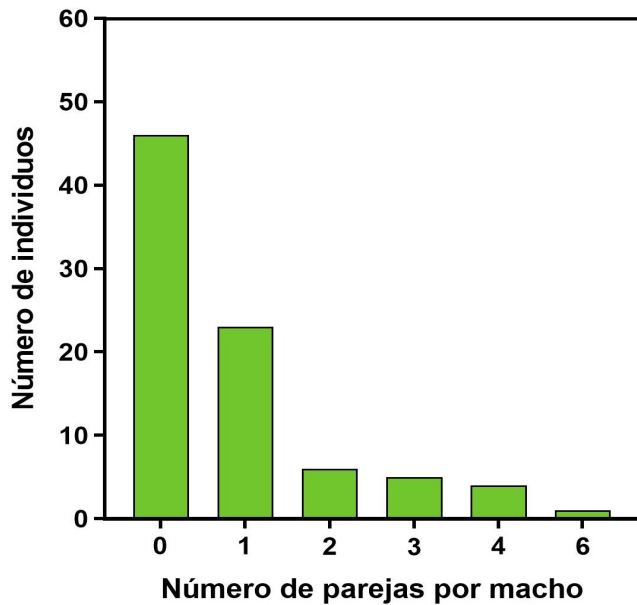
### Comportamiento de cortejo

El comportamiento de cortejo que registramos en nuestra población de estudio es similar a lo descrito para la población de Panamá (Greer & Wells, 1980). En ambas poblaciones, cuando un macho atrae a una hembra (o incluso dos) empieza a disminuir la frecuencia de emisión de cantos de anuncio y a incrementar la emisión de cantos de cortejo. Este es un aspecto conductual común en anuros (Owen & Tucker, 2006; Wells, 2007; Vargas-Salinas et al., 2014; Rojas-Montoya et al., 2024). Además, en diversas especies de anuros se ha documentado que, durante el cortejo, el macho y la hembra pueden utilizar modalidades sensoriales de comunicación adicional a la acústica (i.e., visual: Silverstone, 1973, Townsend & Steward, 1986, Amézquita & Hödl, 2004; Vargas-Salinas et al., 2014; Química: Brunetti et al., 2014; Schulte et al., 2021). Las observaciones que realizamos durante los cortejos monitoreados (Apéndice I) y las de Greer y Wells (1980), indican que los individuos de *H. tatayoi* podrían utilizar señales acústicas, visuales y táctiles durante el cortejo.



**Figure 5.** Behavior of *Hyalinobatrachium tatayoi* during amplexus and oviposition. Male and female raising their cloaca during amplexus (A); after oviposition and possible release of sperm by the male, the female starts to move away from the clutch (B, C); male covering the egg clutch after the female jumped into adjacent vegetation and moved away from the oviposition site (D). Body size (Snout-vent length) of male = 22.9 mm and of female 24.00 mm.

**Figura 5.** Comportamiento de *Hyalinobatrachium tatayoi* durante el amplexo y oviposición. Macho y hembra levantando su cloaca durante el amplexo (A); después de la oviposición y posible liberación de espermia por el macho, la hembra empieza a alejarse de la puesta (B, C); macho cubriendo la puesta de huevos después de que la hembra saltó hacia la vegetación adyacente y se alejó del sitio de oviposición (D). Tamaño corporal (Longitud hocico-cloaca) del macho = 22.9 mm y de la hembra = 24.00 mm.



**Figure 6.** Heterogeneity in mating success among 85 males of the glass frog *Hyalinobatrachium tatayoi*. Note that 46 (54.1 %) of the 85 males were not recorded in amplexus on any occasion.

**Figura 6.** Heterogeneidad en el éxito de apareo entre 85 machos de la rana de cristal *Hyalinobatrachium tatayoi*. Nótese que 46 (54.1 %) de los 85 machos no se registraron en amplexo en ninguna ocasión.

En ranas de cristal, los machos no parecen forzar el amplexo. Por ejemplo, en *H. tatayoi* la hembra toca al macho en varias ocasiones sin que él intente amplexarla (Greer & Wells, 1980; *obs. pers.*). Lo anterior es intrigante, ya que en anuros es común que se registre que los machos tienden a forzar el amplexo o incluso a quitarle la hembra amplexada a otros machos (Arak, 1983; Halliday & Tejedo, 1995). El comportamiento de cortejo en *H. tatayoi* sugiere, por un lado, que las hembras tendrían la oportunidad de aparearse con un macho acorde a su preferencia. Los estudios de selección sexual con Centrolenidae no han hecho énfasis en evaluar los posibles beneficios que obtendrían las hembras de aparearse con un tipo de macho en particular (pero ver Ospina-L et al., 2017 y Valencia-Aguilar et al., 2020), como sí se ha hecho en anuros de otras familias (e.g., Davies & Halliday, 1977; Howard, 1978; Sullivan et al., 1995; Grafe, 1997; Forsman & Hagman, 2006; Pettitt et al., 2020). Por otro lado, el cortejo prolongado en *H. tatayoi* también sugiere que los machos podrían discriminar entre potenciales parejas (Rosenthal, 2017; Schlupp, 2021), pero este es un aspecto que requiere investigarse en detalle debido a sus importantes implicaciones en nuestro entendimiento sobre los procesos de selección sexual en anuros.

## Amplexo y oviposición

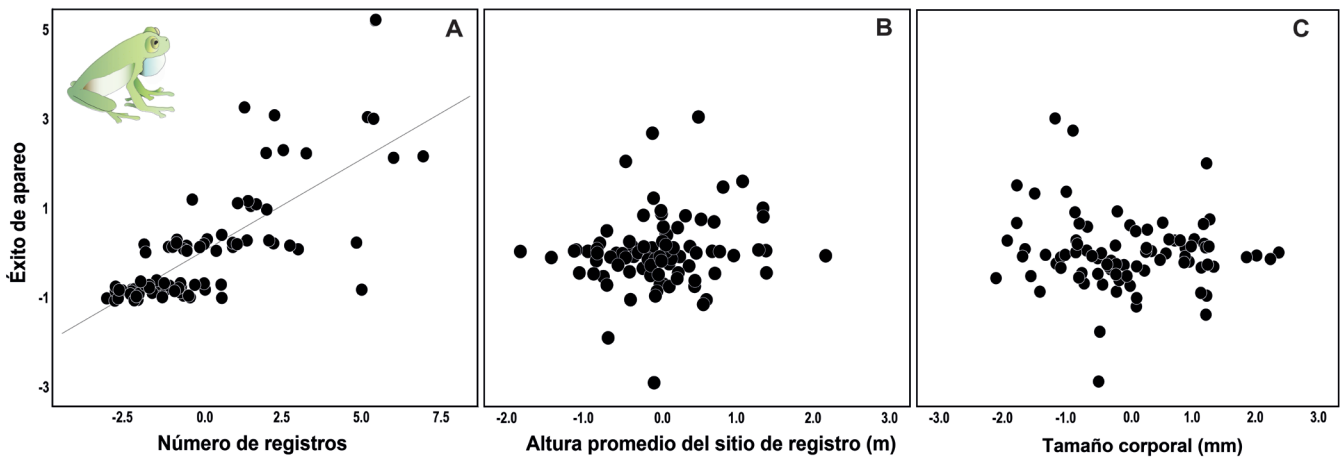
El amplexo en *H. tatayoi* es axilar, como es predominante en Centrolenidae y anuros arbóreos (Carvajal-Castro et al., 2020). Respecto a la oviposición, en *H. tatayoi* se da un movimiento simultáneo entre macho y hembra de tal forma que los huevos recién puestos son atendidos inmediatamente por uno de los parentales mientras el otro se retira, tal y como se ha reportado en otras ranas de cristal (Basto-Riascos et al., 2017; Rios-Soto et al., 2017a; Ospina-L et al., 2020; Guevara-Molina & Vargas-Salinas, 2014; Delia et al., 2017, 2020). En ranas de cristal la atención de las puestas inmediatamente después de la oviposición, ya sea por parte del macho o de la hembra, es importante para aumentar la supervivencia de los embriones (Vockenhuber, 2009; Delia et al., 2017, 2020).

Acorde a nuestras observaciones en campo, las hembras de *H. tatayoi* pueden aparearse más de una vez en una misma temporada reproductiva. El registro de este comportamiento en *H. tatayoi* fue inesperado dado que Greer y Wells (1980) no lo reportan para su población de estudio en Panamá y los estudios con otras especies en ranas de cristal generalmente se enfocan en el éxito de apareo de los machos (e.g., Jacobson 1985; Ospina-L et al., 2017; Noronha & Rodrigues, 2018). En ranas de cristal, la poliandria ha sido registrada en *Hyalinobatrachium valerioi* (Mangold et al., 2015), e *Hyalinobatrachium cappellei* (Valencia-Aguilar et al., 2020), y posiblemente suceda en *Ikakogi tayrona* (Bravo-Valencia & Delia, 2016; Navarro-Salcedo et al., 2022). Aparearse con diferentes machos en una misma temporada reproductiva ha sido hipotetizado como el resultado de selección de pareja por parte de hembras y los beneficios que tendrían en su éxito reproductivo (Evans & Magurran, 2000; Byrne et al., 2019). Sin embargo, tal y como lo interpretan Mangold et al. (2015) para *H. valerioi*, es factible que el apareo de una hembra con machos diferentes sea simplemente la consecuencia de que ellas, al desplazarse a través del hábitat reproductivo, se aparean con el macho más cercano o detectable en el momento en que están ovulando. Esta interpretación va en concordancia con el patrón de apareo no aleatorio que reportamos en *H. tatayoi* y la relación positiva entre el éxito de apareo de los machos y el número de noches en que son activos en su territorio. Claramente, la presencia de poliandria es un aspecto del comportamiento reproductivo en ranas de cristal que requiere ser estudiado en más detalle ya que, proporcionaría información valiosa sobre la diversidad de estrategias reproductivas en estos anuros además de, revelar adaptaciones evolutivas que promueven variabilidad genética en las poblaciones y sus posibilidades de persistencia en entornos cambiantes (Byrne & Roberts, 2012; Zamudio et al., 2016).

### Patrón de apareo

Al igual que en la población panameña estudiada por Greer y Wells (1980), en nuestro estudio los machos de *H. tatayoi* que permanecieron activos en su territorio por un mayor número de noches tuvieron un mayor éxito de apareo. Resultados similares se han reportado en otras especies de Centrolenidae (e.g., *H. fleischmanni*: Jacobson, 1985; *H. valerioi*: Mangold et al., 2015; *Espadarana prosoblepon*: Jacobson, 1985; Basto-Riascos et al., 2017; *C. savagei*: Vargas-Salinas et al., 2014; Ospina-L et al., 2017) y anuros en general (e.g., *Hyperolius marmoratus*: Dyson et al., 1998; *Hyla arborea*: Friedl & Klump, 2005, *Leptodactylus labyrinthicus*: Zina & Haddad, 2005; *Oophaga pumilio*: Pröhl, 2003; *Allobates subfolionidificans*: Souza et al., 2021). Los machos que pasan más noches cantando en su territorio tendrían mayor probabilidad de aparearse al coincidir con hembras que llegan a la zona en busca de pareja (Mangold et al., 2015). Este patrón de apareo sugiere un proceso de selección de pareja por parte de las hembras, aunque no necesariamente hacia machos con alguna característica fenotípica en particular (Parker, 1982; Meuche et al., 2013; Mangold et al., 2015). Cantar es energéticamente costoso en anuros (Pough et al., 1992; Wells, 2001; Bevier, 2016) e implica riesgos de depredación y parasitismo (Gerhardt & Huber, 2002; Bernal et al., 2006). Por lo tanto, cuando una hembra se aparee con un macho que canta numerosas noches, podría estar apareándose con un macho de alta calidad genética, con buena condición física o con buena capacidad de forrajeo y recuperación de condición física (Bateson, 1983; Rosenthal, 2017)

En nuestro estudio, el análisis de regresión lineal múltiple y el análisis lineal mixto indican que la altura del sustrato en el cual registramos a un macho no se relacionó con su éxito de apareo. Este resultado no necesariamente es contradictorio a lo obtenido por Greer y Wells (1980), quienes encontraron que machos que cantan desde sitios relativamente altos ( $> 0.6$  m) tienen mayor éxito de apareo que machos que cantan desde sitios relativamente bajos ( $\leq 0.6$  m). Este resultado expuesto por Greer y Wells (1980), no implica una relación lineal entre altura y éxito de apareo en machos de *H. tatayoi*; en otras palabras, es posible que, entre el rango de altura superior a 0.6 m, la altura a la cual cantan los machos no determine diferencias en sus probabilidades de atraer hembras. No replicamos el análisis realizado por Greer y Wells (1980) dado que, no fue factible visitar el área de estudio todas las noches y, por lo tanto, no logramos hacer un monitoreo diario similar al realizado por dichos autores. Sin embargo, evidencia indirecta nos sugiere que, cuando un macho se desplaza a cantar en sitios por encima de 0.6 m podría tener más probabilidad de atraer a una hembra. De 72 amplexos registrados en nuestro estudio, 64 estaban sobre hojas a alturas  $> 0.6$  m y solo 8 a alturas de  $\leq 0.6$  m. Una tendencia similar sucede con la altura a la cual registramos las puestas de huevos (Rojas-Montoya et al., en preparación). No creemos que esta tendencia sea un sesgo en la detectabilidad de los amplexos y puestas debido a que fuimos cuidadosos en revisar todo tipo de sustrato a diferentes alturas.



**Figure 7.** Partial regression plots showing the relationship between the number of females attracted to a male (mating success) of *Hyalinobatrachium tatayoi* with the number of nights he was active on his territory (A), the average height of the substrate in which was recorded (B) and his body size (C). Positive and negative values on the axes are residuals of the multiple regression analysis. The trend line is only shown when the relationship between variables was significant at  $\alpha \leq 0.05$ .

**Figura 7.** Gráficos parciales de una regresión múltiple indicando la relación entre el número de hembras atraídas por un macho (éxito de apareo) de *Hyalinobatrachium tatayoi* con el número de noches que estuvo activo en su territorio (A), la altura promedio del sustrato en el cual fue registrado (B) y su tamaño corporal (C). Los valores positivos y negativos en los ejes corresponden a residuales del análisis de regresión lineal múltiple. Solo se muestra la línea de tendencia cuando la relación entre variables fue significativa a un  $\alpha \leq 0.05$ .

Los machos de *H. tatayoi* con mayor tamaño corporal no tuvieron mayor éxito de apareo que machos relativamente pequeños. Este es un resultado recurrente en ranas de cristal (pero ver Vargas-Salinas et al., 2014; Ospina-L et al., 2017). En *H. tatayoi*, los machos defienden su territorio a través del uso de señales acústicas (Greer & Wells, 1980) y aparentemente no escalan el conflicto hasta combates físicos, como sucede en otras ranas de cristal (*Centrolene buckleyi*: Bolívar-G et al., 1999; *Hyalinobatrachium viridissimum*: Delia et al., 2010; Mendoza-Henao et al., 2020; *Nymphargus grandisonae*: Hütter et al., 2013b; *Espadarana prosoblepon*: Rios-Soto et al., 2017b) y anuros en general (Halliday & Tejedo, 1995; Wells, 2007). Nuestras observaciones y la ausencia de una espina humeral desarrollada en *H. tatayoi* sugieren que, en esta especie, la competencia entre machos no implica eventos de interferencia física entre ellos. Es posible que selección sexual no esté actuando a favor de un mayor tamaño corporal de los machos de *H. tatayoi*, como sí sucede en otros anuros en los cuales los machos monopolizan recursos que incrementan la probabilidad de ser seleccionados por una hembra (Sullivan et al., 1995; Wells, 2007; Valencia-Aguilar et al., 2024). En cuanto a la falta de apareo asociativo para tamaño corporal en *H. tatayoi*, este es el resultado más frecuente en anuros (Wells, 2007) y sugiere que, en esta especie, al igual que en otras ranas de cristal (e.g., *E. prosoblepon*: Goyes Vallejos et al., 2021), el éxito de apareamiento y fertilización de huevos no depende del tamaño corporal de los machos ni de su relación con el tamaño de la hembra amplexada (Davies & Halliday, 1977; Robertson, 1990; Fan et al., 2013).

Documentar aspectos detallados de cortejo y patrones de apareo en ranas de cristal como *H. tatayoi* ofrece información importante para entender su ecología evolutiva, sin embargo, reconocemos algunas limitantes en nuestro estudio. Primero, en el análisis de patrón de apareo incluimos como una de las variables independientes el número de noches que un macho fue registrado. En particular, no fue posible determinar si cada macho vocalizó todas las veces que fue registrado. Sin embargo, no creemos que la relación positiva encontrada entre el número de registros del macho y su éxito de apareo sea un producto de no haber discriminado la actividad precisa que exhibía un macho en su momento de registro. Las lluvias y la actividad de canto predominaron durante todo el periodo de muestreo, lo que permite asumir que los machos generalmente estaban predispuestos a cantar. No obstante, en futuros estudios se debería monitorear continuamente la actividad de los machos (a través de observaciones directas o el uso de grabaciones de video automatizadas) ya que, en algunos casos ellos podrían salir de su refugio diurno y no necesariamente cantar así las condiciones ambientales sean aparentemente favorables para encontrar pareja. Determinar el conjunto de factores que

promueve la actividad de canto en *H. tatayoi* va más allá de los objetivos de este estudio, pero es un aspecto de la biología conductual de anuros que aún requiere ser documentado en detalle (Goutte, 2023). Segundo, no fue factible asignar paternidad a las numerosas puestas que registramos en campo ( $N > 300$  puestas; Rojas-Montoya et al., en preparación) ya que, la cercanía de un macho a una postura no necesariamente indica relación genética (Valencia-Aguilar et al., 2020). Sin embargo, esperaríamos que en estudios genéticos de paternidad con *H. tatayoi* se registrase un patrón de apareo similar al encontrado en este estudio; es decir, que persista la relación positiva entre el esfuerzo que invierte un macho en buscar pareja y su éxito de apareo (Mangold et al., 2015).

## CONCLUSIÓN Y PERSPECTIVAS

Variación geográfica intraespecífica en comportamiento es frecuente en anuros (Halliday & Tejedo, 1995; Foster & Endler, 1999; Baraquet et al., 2007; Llusia et al., 2013; Velásquez, 2014). Sin embargo, pocas veces se ha evaluado en ranas de cristal. No detectamos un patrón claro de variación en aspectos relacionados al comportamiento reproductivo en esta especie. El sitio de canto de los machos, el comportamiento de cortejo y el patrón de apareo que encontramos en nuestra población de estudio es similar a la que reportan Green y Wells (1980) en una población panameña de *H. tatayoi*. Una tendencia similar parece suceder con respecto a su canto de anuncio y de cortejo (Rojas-Montoya et al., 2024). Por otro lado, el registro detallado de aspectos reproductivos tales como el comportamiento de cortejo, variabilidad en éxito de apareo de los machos y la existencia de poliandria en esta población de *H. tatayoi*, ofrece perspectivas interesantes sobre el comportamiento reproductivo de esta y otras ranas de cristal. Futuros estudios que incluyan análisis de flujo genético entre poblaciones ayudarían a comprender mejor por qué habría poca variación geográfica intraespecífica en comportamiento reproductivo de especies que, como *H. tatayoi*, se distribuyen en hábitats con condiciones ambientales contrastantes (ej., bosque seco, bosque húmedo). Además, dichos estudios genéticos también ayudarían a determinar los niveles de poliandria y su efecto en diversidad genética y procesos de selección sexual actuando en esta y otras ranas de cristal.

**Agradecimientos.** – Agradecemos a PH Carvajal “Nacho” y M Gallo por facilitar el acceso al área de estudio, y a los integrantes del grupo EECO del Programa de Biología de la Universidad del Quindío por su colaboración en el trabajo de campo. Gracias a AM Mopán-Chilito y JD Carvajal-Castro por su colaboración con algunos análisis estadísticos. Esta investigación hace parte del proyecto “Diversidad e Historia natural de anfibios y reptiles en el departamento del Quindío, Colombia” radicado en la



Vicerrectoría de investigaciones de la Universidad del Quindío, Armenia, Colombia. Durante este estudio se siguieron todas las normas éticas para el cuidado y manipulación de los ejemplares dictados por las instituciones internacionales, nacionales y regionales.

## LITERATURA CITADA

- Amézquita, A. & W. Hödl. 2004. How, when, and where to perform visual displays: the case of the Amazonian frog *Hyla parviceps*. *Herpetologica* 60:420-429.
- Arak, A. 1983. Male-male competition and mate choice in anuran amphibians. Pp. 181-210. En P. Bateson (Ed.). *Mate choice*. Cambridge University Press, New York, New York, USA.
- Arcila-Pérez, L.F., J.A. Rios-Soto, S.O. Montilla, C.A. Londoño-Guarnizo, C. Gómez & F. Vargas-Salinas. 2017. Vocalization and natural history in populations of a glassfrog assigned to *Nymphargus griffithsi* in the Central Andes of Colombia. *Herpetological Review* 48:275-280.
- Baraquet, M., N.E. Salas & I.E. Di Tada. 2007. Variación geográfica en el canto de advertencia de *Hypsiboas pulchellus* (Anura, Hylidae) en Argentina. *Revista Española de Herpetología* 21:107-118.
- Barnett, J.B., C. Michalis, H.M. Anderson, B.L. McEwen, J. Yeager, J.N. Pruitt, N.E. Scott-Samuel & I.C. Cuthill. 2020. Imperfect transparency and camouflage in glass frogs. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117:12885-12890.
- Barona-Cortés, E. & A.M. Mendoza-Henao. 2022. *Hyalinobatrachium tatayoi*. Catálogo de anfibios y reptiles de Colombia 8:43-54.
- Basto-Riascos, M.C., J. López-Caro & F. Vargas-Salinas. 2017. Reproductive ecology of the glass frog *Espadarana prosoblepon* (Anura: Centrolenidae) in an urban forest of the Central Andes of Colombia. *Journal of Natural History* 51:2535-2550.
- Bates, D., M. Martin, B. Ben & S. Walker. 2023. lme4: Linear Mixed-Effects Models Using Eigen and S4. Versión 1.1-35.1. <https://cran.r-project.org/web/packages/lme4/lme4.pdf> [Consultado en febrero 2024]
- Bateson, P. 1983. *Mate choice*. Cambridge University Press, New York, New York, USA.
- Bernal, X.E., A.S. Rand & M.J. Ryan. 2006. Acoustic preferences and localization performance of blood-sucking flies (*Corethrella coquillett*) to tungara frog calls. *Behavioral Ecology* 17:709-715.
- Bevier, C.R. 2016. Physiological and biochemical correlates of calling behavior in anurans with different calling strategies. Pp. 63-79. En D.V. de Andrade, C.R. Bevier & J.E. de Carvalho (Eds.), *Amphibian and Reptile Adaptations to the Environment: Interplay Between Physiology and Behavior*. CRC Press Taylor & Francis Group, Florida, USA.
- Bolívar-G, W., T. Grant & L.A. Osorio. 1999. Combat behavior in *Centrolene buckleyi* and other centrolenid frogs. *Alytes* 16:77-83.
- Bravo-Valencia, L. & J. Delia. 2016. Maternal care in a glassfrog: care function and commitment to offspring in *Ikakogi tayrona*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 70:41-48.
- Brunetti, A.E., C. Taboada & J. Faivovich. 2014. The reproductive biology of *Hypsiboas punctatus* (Anura: Hylidae) male territoriality and the possible role of different signals during female choice. *Salamandra* 50:215-224.
- Byrne, P.G., J.D. Gaitan-Espitia & A.J. Silla. 2019. Genetic benefits of extreme sequential polyandry in a terrestrial-breeding frog. *Evolution* 73:1972-1985.
- Byrne, P.G. & J.D. Roberts. 2012. Evolutionary causes and consequences of sequential polyandry in anuran amphibians. *Biological Reviews* 87:209-228.
- Cardozo-Urdaneta, A.C. & C. Señaris. 2010. Vocalización y biología reproductiva de las ranas de cristal *Hyalinobatrachium pallidum* y *Centrolene daidaleum* (Anura; Centrolenidae) en la sierra de Perijá; Venezuela. *Memoria de la Fundación La Salle de Ciencias Naturales* 70:87-106.
- Carvajal-Castro, J.D., Y. López-Aguirre, A.M. Ospina-L, J.C. Santos, B. Rojas & F. Vargas-Salinas. 2020. Much more than a clasp: evolutionary patterns of amplexus diversity in anurans. *Biological Journal of the Linnean Society* 129:652-663.
- Castroviejo-Fisher, S., J. Ayarzagüena & C. Vila. 2007. A new species of *Hyalinobatrachium* (Centrolenidae: Anura) from Serranía de Perijá, Venezuela. *Zootaxa* 1441:51-62.
- Castroviejo-Fisher, S., J.M. Guayasamin, A. Gonzalez-Voyer, C. Vilà & M. Ebach. 2014. Neotropical diversification seen through glassfrogs. *Journal of Biogeography* 41:66-80.



- Castroviejo-Fisher, S., C. Vila, J. Ayarzagüena, M. Blanc & R. Ernst. 2011. Species diversity of *Hyalinobatrachium* glassfrogs (Amphibia: Centrolenidae) from the Guiana Shield, with the description of two new species. *Zootaxa* 3132:1-55.
- Cisneros-Heredia, D.F. & R.W. McDiarmid. 2007. Revision of the characters of Centrolenidae (Amphibia: Anura: Athesphatanura), with comments on its taxonomy and the description of new taxa of glassfrogs. *Zootaxa* 1572:1-82.
- Coyne, J.A. & H.A. Orr. 2004. Speciation: a catalogue and critique of species concepts. Pp. 272-292. En A. Rosenberg & R. Arp (Eds.). *Philosophy of biology: an anthology*. Wiley-Blackwell, West Sussex, UK.
- Crawford, A.J. & A. Paz. 2017. Recolección de tejidos biológicos para análisis genéticos en anfibios. Pp. 1-33. En M.A. González & H. Arenas-Castro (Eds.). *Recolección de tejidos biológicos para análisis genéticos*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá, Colombia.
- Davies, N.B. & T.R. Halliday. 1977. Optimal mate selection in the toad *Bufo bufo*. *Nature* 269:56-58.
- Delia, J., A. Ramirez-Bautista & K. Summers. 2013. Parents adjust care in response to weather conditions and egg dehydration in a Neotropical glass frog. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 67:557-569.
- Delia, J., A. Ramirez-Bautista & K. Summers. 2014. Glassfrog embryos hatch early after parental desertion. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 281:20133237.
- Delia, J., D.F. Cisneros-Heredia, J. Whitney & R. Murrieta-Galindo. 2010. Observations on the Reproductive Behavior of a Neotropical Glassfrog, *Hyalinobatrachium fleischmanni* (Anura: Centrolenidae) *South American Journal of Herpetology* 5:1-12.
- Delia, J., L. Bravo-Valencia & K.M. Warkentin. 2017. Patterns of parental care in Neotropical glassfrogs: fieldwork alters hypotheses of sex-role evolution. *Journal of Evolutionary Biology* 30:898-914.
- Delia, J., L. Bravo-Valencia & K.M. Warkentin. 2020. The evolution of extended parental care in glassfrogs: Do egg clutch phenotypes mediate coevolution between the sexes? *Ecological Monographs* 90:3-e01411.
- Donnelly, M.A., C. Guyer, E.J. Juterbock & R.A. Alford. 1994. Pp. 277-284. Techniques for marking amphibians. En W. R. Heyer, M. A. Donnelly, R. W. McDiarmid, L. C. Hayek, M. S. Foster (Eds.), *Measuring and monitoring biological diversity: Standard methods for amphibians*. Smithsonian Institution Press, Washington D.C., USA.
- Duarte-Marín, S., M. Rada, M. Rivera-Correa, V. Caorsi, E. Barona, G. González-Durán & F. Vargas-Salinas. 2022. Tic, Tii and Trii calls: the advertisement call for eight glass frogs from Colombia and analysis of the structure of auditory signals in Centrolenidae. *Bioacoustics* 32:143-180.
- Dyson, M.L., S. Peter Henzi, T.R. Halliday & L. Barrett. 1998. Success breeds success in mating male reed frogs (*Hyperolius marmoratus*). *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 265:1417-1421.
- Escalona, S.M.D., P. Ivo Simões, A. Gonzalez-Voyer & S. Castroviejo-Fisher. 2019. Neotropical frogs and mating songs: the evolution of advertisement calls in glassfrogs. *Journal of Evolutionary Biology* 32:163-176.
- Evans, J.P. & A.E. Magurran. 2000. Multiple benefits of multiple mating in guppies. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97:10074-10076.
- Fan, X.L., Z.H. Lin & X. Ji. 2013. Male size does not correlate with fertilization success in two bufonid toads that show size-assortative mating. *Current Zoology* 59:740-746.
- Ferner, J.W. 2010. Measuring and marking post-metamorphic amphibians. Pp. 123-141. En C.K. Dodd (Ed.). *Amphibian ecology and conservation: A handbook of techniques*, Oxford University Press, UK.
- Forsman, A. & M. Hagman. 2006. Calling is a honest indicator of paternal genetic quality in poison frogs. *Evolution* 60:2148-2157.
- Friedl, T.W. & G.M. Klump. 2005. Sexual selection in the lek-breeding European treefrog: body size, chorus attendance, random mating and good genes. *Animal Behaviour* 70:1141-1154.
- Frost, D.R. 2024. *Amphibian species of the world: an online reference*. American Museum of Natural History, New York. Version 6.1. <https://amphibiansoftheworld.amnh.org> [Consultado en febrero 2024]
- Gerhardt, H.C. & F. Huber. 2002. *Acoustic communication in insects and anurans: common problems and diverse solutions*. University of Chicago Press, Chicago, USA.



- Gómez-Murcia, D.A., M.M. Bedoya-Ospina, L.F. Arcila-Pérez & F. Vargas-Salinas. 2024. Nothing like home: Most males of *Espadarana prosoblepon* (Anura: Centrolenidae) exhibit homing to calling sites despite the availability of alternative suitable sites for calling and mating. *Ethology Ecology & Evolution* 36:70-85.
- González-Acosta, C., A. Amézquita & F. Vargas-Salinas. 2023. Variation in the advertisement call of the poison frog *Andinobates bombetes* relates with geographic distance between populations, but not with divergence in warning coloration. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 1-13.
- Gosner, K.L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16:183-190.
- Goutte, S. 2023. Acoustic Communication in Anurans. Pp. 193-218. En G. Moreno-Rueda & M. Comas (Eds.). *Evolutionary Ecology of Amphibians*. CRC Press, Abingdon, UK.
- Goyes Vallejos, J., J. Gómez, A.D. Hernández-Figueroa, R. Vera & D.M. Green. 2021. Fertilization success suggests random pairing in frogs with regard to body size. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 75:1-8.
- Goyes Vallejos, J., K. Ramirez-Soto. 2020. Causes of embryonic mortality in *Espadarana prosoblepon* (Anura: Centrolenidae) from Costa Rica. *Phyllomedusa* 19:83-92.
- Grafe, U.T. 1997. Costs and benefits of mate choice in the lek-breeding reed frog, *Hyperolius marmoratus*. *Animal Behaviour* 53:1103-1117.
- Greer, B.J. & K.D. Wells. 1980. Territorial and reproductive behavior of the tropical American frog *Centrolenella fleischmanni*. *Herpetologica* 36:318-326.
- Guevara-Molina, S.C. & F. Vargas-Salinas 2014. *Nymphargus grandisonae* (Anura: Centrolenidae). Reproductive behaviour. *Herpetological Bulletin* 128:29-30.
- Halliday, T. & M. Tejedo. 1995. Intrasexual selection and alternative mating behavior. Pp. 419-468. En H. Heatwole (Ed.). *Amphibian biology: Social behaviour*, Surrey Beatty, Chipping Norton, Australia.
- Howard, D.H. 1978. The influence of male-defended oviposition sites on early embryo mortality in bullfrogs. *Ecology* 59:789-798.
- Hütter, C.R., S. Escobar-Lasso, J.A. Rojas-Morales, P.D.A. Gutiérrez-Cárdenas, H. Imba & J.M. Guayasamin. 2013a. The territoriality, vocalizations and aggressive interactions of the red-spotted glassfrog, *Nymphargus grandisonae*, Cochran and Goin, 1970 (Anura: Centrolenidae). *Journal of Natural History* 47:3011-3032.
- Hütter, C.R., J.M. Guayasamin, J.J. Wiens & A. Mooers. 2013b. Explaining Andean megadiversity: the evolutionary and ecological causes of glassfrog elevational richness patterns. *Ecology Letters* 16:1135-1144.
- IBM Corp. Released. 2019. IBM SPSS Statistics for Windows. Version 26.0. <https://www.ibm.com/es-es/products/spss-statistics> [Consultado en enero 2024]
- Jacobson, S.K. 1985. Reproductive behavior and male mating success in two species of glass frogs (Centrolenidae). *Herpetologica* 41:396-404.
- Krohn, A.R. & J. Voyles. 2014. A short note on the use of humeral spines in combat in *Espadarana prosoblepon* (Anura: Centrolenidae). *Alytes* 31:83-85.
- Kubicki, B. 2007. Ranas de vidrio de Costa Rica. Glass frogs of Costa Rica. Santo Domingo de Heredia: Editorial INBio. Santo Domingo, Heredia, Costa Rica.
- Llusia, D., R. Márquez, J.F. Beltrán, C. Moreira & J.P. Do Amaral. 2013. Environmental and social determinants of anuran lekking behavior: intraspecific variation in populations at thermal extremes. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 67:493-511.
- Luyten, P.H. & N.R. Liley. 1985. Geographic variation in the sexual behaviour of the guppy, *Poecilia reticulata* (Peters). *Behaviour* 95:164-179.
- Mangold, A., K. Trenkwalder, M. Ringler, W. Höld & E. Ringler. 2015. Low reproductive skew despite high male-biased operational sex ratio in a glass frog with paternal care. *BMC Evolutionary Biology* 15:1-13.
- McCaffery, R. & K. Lips. 2013. Survival and abundance in males of the glass frog *Espadarana (Centrolene) prosoblepon* in central Panama. *Journal of Herpetology* 47:162-168.
- Mendoza-Henao, A.M., E. Arias, J.H. Townsend & G. Parra-Olea. 2020. Phylogeny-based species delimitation and integrative taxonomic revision of the *Hyalinobatrachium fleischmanni* species complex, with resurrection of *H. viridissimum* (Taylor, 1942). *Systematics and Biodiversity* 18:464-484.



- Mendoza-Henao, A.M., K.R. Zamudio, J.M. Guayasamin, M Escalona & G. Parra-Olea. 2022. Environment rather than character displacement explains call evolution in glassfrogs. *Evolution* 7:355-369.
- Meuche, I., O. Brusa, K.E. Linsenmair, A. Keller & H. Pröhl. 2013. Only distance matters—non-choosy females in a poison frog population. *Frontiers in Zoology* 10:1-16.
- Montilla, S.O., L.F. Arcila-Pérez, M.P. Toro-Gómez, F. Vargas-Salinas & M. Rada. 2023. Multidisciplinary approach reveals a new species of glassfrog from Colombia (Anura: Centrolenidae: *Nymphargus*). *Zootaxa* 5271:1-48.
- Morrison, C. & J.M. Hero. 2003. Geographic variation in life-history characteristics of amphibians: a review. *Journal of Animal Ecology* 72:270-279.
- Navarro-Salcedo, P., L.F. Arcila-Pérez, J.L. González-Pérez, L.A. Rueda-Solano, M. Rada & F. Vargas-Salinas. 2022. Sex difference in homing: males but not females return home despite offspring mortality in *Ikakogi tayrona*, a glassfrog with prolonged maternal care. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 76:1-13.
- Navarro-Salcedo, P., S. Duarte-Marín, M. Rada & F. Vargas-Salinas 2021. Parental status is related to homing motivation in males of the glassfrog *Centrolene savagei*. *Ethology Ecology and Evolution* 33:528-542.
- Noronha, J.D.C.D. & D.D.J. Rodrigues. 2018. Reproductive behaviour of the glass frog *Hyalinobatrachium cappellei* (Anura: Centrolenidae) in the Southern Amazon. *Journal of Natural History* 52:207-224.
- Ortiz-Ross, X., Thompson, M. E., Salicetti-Nelson, E., Vargas-Ramírez, O., & Donnelly, M. A. 2020. Oviposition Site Selection in Three Glass Frog Species. *Copeia* 108:333 -340.
- Ospina-L, A.M., J.A. Rios-Soto & F. Vargas-Salinas. 2017. Size, endurance or parental care performance? Male-male competition, female choice, and non-random mating pattern in the glassfrog *Centrolene savagei*. *Copeia* 105:575-583.
- Ospina-L, A.M., P.A. Navarro-Salcedo, J.A. Rios-Soto, S. Duarte-Marín & F. Vargas-Salinas. 2020. Temporal patterns, benefits, and defensive behaviours associated with male parental care in the glassfrog *Centrolene savagei*. *Ethology Ecology and Evolution* 32:162-174.
- Owen, P.C. & J.K.Tucker. 2006. Courtship calls and behavior in two species of chorus frogs, genus *Pseudacris* (Anura: Hylidae). *Copeia* 2006:137-144.
- Parker, G.A. 1982. Why are there so many tiny sperm? Sperm competition and the maintenance of two sexes. *Journal of Theoretical Biology* 96:281-294.
- Pettitt, B.A., G.R. Bourne & M.A. Bee. 2020. Females prefer the calls of better fathers in a Neotropical frog with biparental care. *Behavioral Ecology* 31:152-163.
- Pough, F.H., W.E. Magnusson, M.J. Ryan, K.D. Wells & T.L. Taigen. 1992. Behavioral energetics. Pp. 395-436. En E. Feder, W. W. Burggren (Eds.). *Environmental Physiology of the Amphibians*. University of Chicago Press, Chicago, USA.
- Prado-Sañudo, M.L., A. Giraldo & W. Bolivar-Garcia. 2018. Parental attendance and site selection of *Centrolene savagei* (Ruiz and Lynch 1991) in the western and central Andes of Colombia. *Herpetology Notes* 11:293-299.
- Pröhl, H. 2003. Variation in male calling behaviour and relation to male mating success in the strawberry poison frog (*Dendrobates pumilio*). *Ethology* 109:273-290.
- Pröhl, H., S. Hagemann, J. Karsch & G. Hobel. 2007. Geographic variation in male sexual signals in strawberry poison frogs (*Dendrobates pumilio*). *Ethology* 113:825-837.
- R Development Core Team. 2023. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Versión 4.3.0. <https://www.r-project.org/> [Consultado en febrero 2024].
- Rada, M., P.H. Dos Santos-Dias, J.L. Pérez-González, L.A. Rueda-Solano, M. Anganoy-Criollo, M.A. Pinto, L.R. Mejía-Quintero, F. Vargas-Salinas & T. Grant 2019. The poverty of adult morphology: bioacoustics, genetics, and internal tadpole morphology reveal a new species of glassfrog (Anura: Centrolenidae: *Ikakogi*) from the Sierra Nevada de Santa Marta, Colombia. *Plos One* 14:e0215349.
- Rios-Soto, J., A.M. Ospina-L & F. Vargas-Salinas. 2017a. The advertisement call and notes of the reproductive ecology of the glassfrog "*Centrolene*" *quindianum* (Anura: Centrolenidae). *South American Journal of Herpetology* 12:117-127.
- Rios-Soto, J., A.M. Ospina-L, M.C. Basto-Riascos, J. López-Caro & F. Vargas-Salinas. 2017b. Description of the distress call in *Espadarana prosoblepon* and the post-amplexus vocal display in



- Centrolene savagei* (Anura: Centrolenidae). Herpetology Notes 10:27-29.
- Robertson, J.G.M. 1990. Female choice increases fertilization success in the Australian frog, *Uperoleia laevigata*. Animal Behavior 39:639-645.
- Rojas-Montoya, M., Y. López-Aguirre, C. González-Acosta & F. Vargas-Salinas. 2024. Repertorio de señales acústicas en la rana de cristal *Hyalinobatrachium tatayoi* (Anura: Centrolenidae). Revista Latinoamericana de Herpetología 7:747-60.
- Rosenthal, G.G. 2017. Mate choice: the evolution of sexual decision making from microbes to humans. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, USA.
- Salazar-Nicholls, M.J. & E.M Del Pino. 2015. Early development of the glass frogs *Hyalinobatrachium fleischmanni* and *Espadarana callistomma* (Anura: Centrolenidae) from cleavage to tadpole hatching. Amphibian & Reptile Conservation 8:89-106.
- Schlupp, I. 2021. Male choice, female competition, and female ornaments in sexual selection. Oxford University Press, Oxford, Oxfordshire, UK.
- Schulte, L.M., A. Martel, R. Cruz-Elizalde, A. Ramírez-Bautista & F. Bossuyt. 2021. Love bites: male frogs (*Plectrohyla*, Hylidae) use teeth scratching to deliver sodefrin precursor-like factors to females during amplexus. Frontiers in Zoology 18:1-14.
- Silverstone, P.A. 1973. Observations on the behavior and ecology of a colombian poison-arrow frog the kôkoé-Pá (*Dendrobates histrionicus* Berthold). Herpetologica 29:295-301.
- Souza, J.R., I.L. Kaefer & A.P. Lima. 2021. Calling activity determines male mating success in a territorial frog with parental care. Ethology 127:359-365.
- Sullivan, B.K., M.J. Ryan & P.A. Verrell. 1995. Female choice and mating system structure. Pp. 469-517. En H. Heatwole (Ed.), Amphibian Biology: Social behaviour, Surrey Beatty, Chipping Norton, Australia.
- Taboada, C., J. Delia, M. Chen, C. Ma, X. Peng, X. Zhu, L. Jiang, T. Vu, Q. Zhou & J. Yao. 2022. Glassfrogs conceal blood in their liver to maintain transparency. Science 378:1315-1320.
- Torres-Gastello, C.P., J. Suárez-Segovia & D.F. Cisneros-Heredia. 2007. *Cochranella erminea*, a new species of Centrolenidae (Amphibia: Anura: Athesphatanura) from Amazonian Peru. Journal of the National Museum (Prague), Natural History Series 176:1-12.
- Townsend, D.S. & M.M. Stewart. 1986. Courtship and mating behavior of a Puerto Rican frog, *Eleutherodactylus coqui*. Herpetologica 42:165-170.
- Valencia-Aguilar, A., E. Ringler, S. Lüpold, J.M. Guayasamin & C.P.A. Prado. 2024. Evolutionary trade-offs between testes size and parenting in Neotropical glassfrogs. Proceedings of the Royal Society B 291:20240054.
- Valencia-Aguilar, A., J.M. Guayasamin & C.P. Prado 2021. Alloparental care in glassfrogs: males care for unrelated clutches only when associated with their own. Scientific Reports 11:1386.
- Valencia-Aguilar, A., K.R. Zamudio, C.F. Haddad, S.M. Bogdanowicz & C.P. Prado. 2020. Show me your care: female mate choice based on egg attendance rather than male or territorial traits. Behavioral Ecology 31:1054-1064.
- Vargas-Salinas, F., A. Quintero-Ángel, D. Osorio-Domínguez, J.A. Rojas-Morales, S. Escobar-Lasso, P.D.A. Gutiérrez-Cárdenas, M. Rivera-Correa & A. Amézquita. 2014. Breeding and parental behavior in the glassfrog *Centrolene savagei*. Journal of Natural History 48:1689-1705.
- Velásquez, N.A. 2014. Geographic variation in acoustic communication in anurans and its neuroethological implications. Journal of Physiology-Paris 108:167-173.
- Villegas-Mora, D., S. Muñoz-Acevedo, E.C. Guevara-Molina & F. Vargas-Salinas. 2020. Phenology and mortality of embryos in a Colombian population of *Nymphargus grandisonae* (Centrolenidae). Phyllomedusa 19:225-241.
- Vockenhuber, E.A, W. Hödl & A. Amézquita. 2009. Glassy Fathers Do Matter: Egg Attendance Enhances Embryonic Survivorship in the Glass Frog *Hyalinobatrachium valerioi*. Journal of Herpetology 43:340-344.
- Vockenhuber, E.A., W. Hödl & U. Karpfen. 2008. Reproductive behaviour of the glass frog *Hyalinobatrachium valerioi* (Anura: Centrolenidae) at the tropical stream Quebrada Negra (La Gamba, Costa Rica). Stapfia 88:335-348.
- Wells, K.D. 2007. The Ecology and Behavior of Amphibians, University of Chicago Press, Chicago, USA.



- Wells, K.D. & J.J. Schwartz. 1982. The effect of vegetation on the propagation of calls in the Neotropical frog *Centrolenella fleischmanni*. *Herpetologica* 38:449-455.
- Wells, K.D. 2001. The energetics of calling frogs. Pp. 45-60. En M.J. Ryan (Ed.). *Anuran communication*. Smithsonian Institution Press, Washington D.C, USA.
- Whitlock, M.C. & D. Schuster 2014. *The analysis of biological data*. Second edition. Roberts and Company Publisher, Greenwood Village, Colorado, USA.
- Wilczynski, W. & M.J. Ryan. 1999. Geographic variation in animal communication systems. Pp. 234-261. En S.A. Foster & J.A. Endler (Eds.). *Geographic variation in behavior*. Oxford University Press, New York, New York, USA.
- Zamudio, R.K., R.C. Bell, R.C. Nali. C.F.B. Haddad & C.P.A. Prado. 2016. Polyandry, Predation, and the Evolution of Frog Reproductive Modes. *The American Naturalist* 188:S41-S61.
- Weather Spark. 2023. Weather Spark: Climate and Average Weather Year Round in La Tebaida, Colombia (Data base). <https://weatherspark.com/y/22438/Average-Weather-in-La-Tebaida-Colombia-Year-Round> [Consultado diciembre 2023]
- Worldclim. 2023. Global climate and weather. Versión 2.1. <https://www.worldclim.org/> [Consultado en diciembre 2023]
- Zina, J. & C.F. Haddad. 2005. Reproductive activity and vocalizations of *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura: Leptodactylidae) in southeastern Brazil. *Biota Neotropica* 5:119-129.



## APÉNDICES

**Appendix 1.** Video of a male glass frog *H. tatayoi* (Snout-vent length = 24.98 mm) emitting courtship and advertisement calls to a female (Snout-vent length = 24.11 mm). Note that the female approached the male and made physical contact with him on several occasions, however, the male did not exhibit any attempt to clasp her. Recorded on 30 September 2022.

**Apéndice 1.** Video de un macho de la rana de cristal *H. tatayoi* (Longitud Hocico-Cloaca = 24.98 mm) emitiendo cantos de anuncio y de cortejo a una hembra (Longitud Hocico-Cloaca = 24.11 mm). Nótese que la hembra se acerca al macho y realiza contacto físico en varias ocasiones, sin embargo, el macho no exhibió ningún intento por amplexarla. Grabación realizada el 30 de septiembre de 2022..

<https://youtu.be/pkpfNoLSkNQ>

**Appendix 2.1** Values of morphological and reproductive characteristics in males of the glass frog *Hyalinobatrachium tatayoi*. Body size was recorded as Snout-vent length (SVL) in millimeters (mm) and individual weight was recorded in grams (g). The average height of substrate in which the male was recorded is in meters (m). When applicable, the characteristic is presented as a mean value followed by the range in parentheses. The asterisk (\*) symbol in some cells of the variable "altura de sustrato" refers to those males (N=8) for which the substrate height was not recorded in some of their entries; in these cases, for the lineal mixed model analysis we replaced the missing information with the average substrate height value obtained from other recordings for the same male.

**Apéndice 2.1.** Valores de características morfológicas y reproductivas en machos de la rana de cristal *Hyalinobatrachium tatayoi*. El tamaño corporal se registró como la longitud hocico-cloaca (LHC) en milímetros (mm) y el peso del individuo se registró en gramos (g). La altura del sustrato en el cual el macho fue registrado se presenta en metros (m). Cuando aplica, la característica se presenta como valor promedio seguido del rango en paréntesis. El símbolo de asterisco (\*) en algunas celdas de la variable "altura de sustrato" hace referencia a aquellos machos (N= 8) a los cuales, en alguno de sus registros no anotamos la altura del sustrato; en estos casos, para el análisis del modelo lineal mixto reemplazamos el vacío de información con el valor promedio de altura de sustrato obtenido a partir de otros registros para el mismo macho.

Código (ID) del macho	Número de hembras amplexadas	Número de registros	Tamaño corporal	Peso	Altura de sustrato
1	0	1	22.02	0.56	2.1
2	1	4	21.64	0.55 (0.50 - 0.58)	1.56 (0.5 - 2.12)
3	4	9	24.50 (24.01 - 24.99)	0.64 (0.56 - 0.70)	1.41 (0.35 - 2.85)
4	3	10	22.88	0.67 (0.60 - 0.75)	1.68 (1.0 - 2.5)

Código (ID) del macho	Número de hembras amplexadas	Número de registros	Tamaño corporal	Peso	Altura de sustrato
5	2	5	23.9	0.64 (0.52 - 0.75)	1.80 (0.78 - 2.9)*
6	0	1	24.91	0.76	1.43
7	1	6	23.05 (22.20 - 23.90)	0.62 (0.52 - 0.70)	2.32 (1.65 - 3.3)*
8	2	6	24.98	0.73 (0.64 - 0.90)	1.58 (0.6 - 2.18)
9	0	1	22.9	0.62	1.26
10	0	3	23.91	0.64 (0.61 - 0.69)	2.22 (1.93 - 2.50)*
11	0	4	23.98	0.74 (0.66 - 0.80)	2.31 (1.65 - 2.90)
12	0	2	22.87 (21.44 - 24.30)	0.63 (0.60 - 0.65)	1.41 (1.0 - 1.82)
13	1	4	22.9	0.67 (0.59 - 0.75)	1.88 (0.70 - 3.50)
14	1	3	23.45 (22.89 - 24.0)	0.71 (0.68 - 0.76)	0.99 (0.40 - 1.75)
15	0	1	22.81	0.66	1.34
16	1	5	22.16	0.68 (0.64 - 0.71)	1.75 (1.10 - 2.20)
17	0	2	21.87	0.64 (0.63 - 0.64)	1.70 (1.3 - 2.1)
18	0	1	21.44	0.68	2
19	0	1	23.62	0.66	3.2
20	0	2	21.56	0.64 (0.60 - 0.67)	1.09 (0.67 - 1.51)
21	1	5	22.1	0.64 (0.60 - 0.73)	1.06 (0.17 - 1.82)*
22	0	8	22.65	0.67 (0.59 - 0.72)	1.60 (0.93 - 2.50)
23	0	2	22.57	0.67 (0.64-0.69)	0.76 (0.57 - 0.94)
24	2	5	23.5	0.69	1.82
25	0	1	22.1	0.61	1.5
26	1	2	22.9	0.63	1.85
27	1	3	23.9	0.65 (0.60 - 0.72)	1.37 (0.9 - 1.85)
28	1	3	23.91	0.78 (0.69 - 0.87)	1.80 (0.3 - 3.3)
29	3	9	22.91	0.60 (0.53 - 0.70)	2.03 (1.1 - 3.01)*
30	0	1	23.12	0.68	1.54
31	0	1	23.45	0.73	0.88
32	0	1	23.45	0.66	2.5
33	0	1	21.52	0.61	1.7
34	0	1	24.75	0.67	2.19
35	2	4	22.1	0.64 (0.55 - 0.72)	2.48 (2.2 - 3.0)
36	3	5	21.38 (20.95 - 21.81)	0.67 (0.59 - 0.77)	1.68 (1.2 - 2.04)
37	1	6	23.09	0.67 (0.53 - 0.72)	1.33 (0.57 - 2.15)
38	1	3	21.89	0.69 (0.66-0.72)	0.65 (0.0 - 1.75)

Código (ID) del macho	Número de hembras amplexadas	Número de registros	Tamaño corporal	Peso	Altura de sustrato
39	1	2	21,85	0.65	1.13 (0.6 - 1.66)
40	0	1	23	0.7	2.3
41	3	6	22.1	0.64 (0.58 - 0.66)	1.75 (0.4 - 2.89)
42	2	4	22.78	0.72 (0.66 - 0.78)	2.30 (1.8 - 2.9)
43	0	1	21.21	0.6	1.7
44	0	3	22.5	0.67 (0.61 - 0.71)	1.75 (1.12 - 2.25)
45	0	1	23.83	0.8	0.72
46	2	2	21.59	0.59 (0.55 - 0.62)	2.65 (1.8 - 3.5)
47	0	1	20.91	0.69	1.03
48	0	2	22.58	0.72 (0.70 - 0.74)	3.20 (3.1-3.3)
49	0	1	21.88	0.65	1.2
50	0	2	22.43	0.63 (0.60 - 0.66)	2.53 (1.30 - 3.75)
51	0	1	21.7	0.65	1.4
52	0	2	22.32	0.73 (0.72 - 0.74)	0.95 (0.90 - 1.0)
53	0	2	20.49	0.66 (0.63 - 0.68)	2.30*
54	0	3	23.83	0.67 (0.60 - 0.71)	1.89 (1.40 - 2.59)
55	6	8	21.94	0.62 (0.49 - 0.71)	2.19 (1.10 - 3.50)*
56	1	8	22.69 (21.64 - 23.74)	0.64 (0.56-0.74)	1.00 (0.5 - 1.59)
57	1	4	22.52	0.66 (0.62 - 0.71)	1.22 (0.25 - 3.56)
58	4	4	21.9	0.64 (0.60 - 0.69)	1.68 (0.70 - 2.78)
59	1	3	20.8	0.57 (0.50 - 0.61)	1.00 (0.0-2.0)*
60	4	6	24.2	0.57 (0.5 - 0.61)	1.25 (1.0 - 1.49)
61	0	1	23.4	0.64	0
62	0	1	22.29	0.69	2.8
63	0	1	23.41	0.69	1.9
64	0	1	24.38	0.58	1.98
65	0	1	23.82	0.6	3.1
66	1	1	22.34	0.68	1.85
67	4	9	24.38	0.68 (0.61 - 0.72)	1.96 (1.25 - 3.23)
68	1	3	22.49	0.61 (0.58 - 0.66)	1.58 (1.49 - 1.76)
69	0	1	23.37	0.58	2.6
70	0	1	23.55	0.61	0.7
71	1	4	24.03	0.67 (0.58 - 0.76)	1.68 (1.5 - 2.6)
72	1	4	22.44	0.65 (0.61-0.71)	1.65 (1.13-1.95)



Código (ID) del macho	Número de hembras amplexadas	Número de registros	Tamaño corporal	Peso	Altura de sustrato
73	1	1	23.01	0.77	3.17
74	0	3	21.29	0.50 (0.44-0.58)	1.75 (1.36-2.3)
75	1	3	22.97	0.63 (0.61-0.64)	1.86 (1.2-2.29)
76	0	1	21.94	0.61	1.84
77	0	2	22.12	0.62 (0.56-0.68)	1.80 (0.4-3.2)
78	0	2	22.57	0.67 (0.65-0.69)	2.05 (2-2.1)
79	1	2	22.71	0.69 (0.64-0.73)	2.04 (1.87-2.21)
80	3	4	20.97	0.55 (0.48-0.59)	2.87 (1.54-4)
81	0	2	21.05	0.57 (0.53-0.61)	2.06 (1.97-2.15)
82	1	1	20.7	0.59	3.21
83	0	1	20.84	0.57	1.88
84	0	1	21.76	0.51	0.43
85	0	1	22.24	0.75	4

**Appendix 2.2** Values of morphological and reproductive characteristics in females of the glass frog *Hyalinobatrachium tatayoi*. Body size was recorded as Snout-vent length (SVL) in millimeters (mm) and individual weight was recorded in grams (g). The height at which an individual was recorded is presented in meters (m). When applicable, the characteristic is presented as a mean value followed by the range in parentheses.

**Apéndice 2.2.** Valores de características morfológicas y reproductivas en hembras de la rana de cristal *Hyalinobatrachium tatayoi*. El tamaño corporal se registró como la longitud hocico-cloaca (LHC) en milímetros (mm) y el peso del individuo se registró en gramos (g). La altura de sustrato en la cual un individuo fue registrado se presenta en metros (m). Cuando aplica, la característica se presenta como valor promedio seguido del rango en paréntesis.

Código (ID) de hembra	Número de amplexos	Número de registros	Tamaño corporal	Peso	Altura de sustrato
1	1	1	24	0.73	2
2	1	1	23.91	0.9	3.3
3	1	1	22.9	0.85	2
4	2	3	24.11	0.85 (0.82 - 0.92)	0.48 (0.40 - 0.60)
5	1	1	24.1	0.87	1
6	2	2	23.83 (23.74 - 23.92)	0.79 (0.74 - 0.84)	1.85 (0.20 - 3.50)
7	1	1	22.89	0.76	0.6
8	0	1	24.1	0.96	2.3
9	0	1	23.91	0.79	2.3
10	0	1	22.2	0.84	1.7
11	0	1	23.1	0.76	NA
12	0	1	24.98	0.84	1.3
13	2	3	23.74	0.90 (0.84 - 0.96)	1.13 (0.65 - 1.60)

Código (ID) de hembra	Número de amplexos	Número de registros	Tamaño corporal	Peso	Altura de sustrato
14	1	1	23.11	0.83	1.8
15	1	1	23.61	0.89	1
16	2	2	24.87	0.90 (0.88 - 0.92)	1.69 (1.40 - 1.97)
17	1	1	24.12	0.96	1.8
18	0	1	23.31	0.8	2
19	2	2	21.89	0.79 (0.77 - 0.81)	1.49 (1.10 - 1.87)
20	0	1	22.49	0.69	1.75
21	1	1	23.67	0.88	2.6
22	1	1	23.35	0.88	1.45
23	1	1	24.51	0.96	1.72
24	1	1	22.03	0.85	1.75
25	1	1	23.24	0.93	1.75
26	2	2	24.4	0.85 (0.81 - 0.89)	3.40 (3.30 - 3.50)
27	1	1	24.41	1.05	2.9
28	1	1	23.31	0.98	1.3
29	1	1	23.98	1.03	2.12
30	1	1	23.98	0.91	0.6
31	1	1	23.28	0.83	2.78
32	1	2	22.44	0.76	2.99 (2.80 - 3.17)
33	1	1	24.02	0.91	1.25
34	0	1	23.25	0.83	1.71
35	2	2	24.86	0.98 (0.95 - 1.00)	1.97 (1.78 - 2.16)
36	1	2	23.9	0.91 (0.89 - 0.93)	2.50 (2.27 - 2.73)
37	1	2	23.9	0.88 (0.87 - 0.88)	1.85 (1.70 - 2.00)
38	0	1	25.93	0.93	1.4
39	2	2	23.99 (22.95 - 25.03)	0.77 (0.73 - 0.80)	1.35 (1.20 - 1.49)
40	0	1	24.27	0.81	1.45
41	1	1	24.51	0.98	1.85
42	1	1	24.61	0.9	1.5
43	1	1	23.86	0.96	1.53
44	0	2	24.47	0.92 (0.86 - 0.97)	1.79 (1.40 - 2.17)
45	2	3	23.99	0.90 (0.73 - 0.99)	1.89 (1.83 - 2.00)
46	0	1	24.17	0.98	1.65
47	1	1	22.86	0.87	1.05

Código (ID) de hembra	Número de amplexos	Número de registros	Tamaño corporal	Peso	Altura de sustrato
48	1	1	23.67	0.9	2.04
49	1	1	25.89	0.98	0.35
50	2	2	23.8	0.83 (0.79 - 0.86)	1.83 (1.32 - 2.33)
51	1	2	25.89	1.03 (0.99 - 1.06)	1.27 (1.06 - 1.27)
52	0	1	23.84	0.78	1.1
53	1	2	24.48	0.75 (0.65 - 0.84)	0.83 (0.34 - 1.32)
54	0	1	23.49	0.8	1.37
55	0	1	24.49	1.04	3.1
56	1	1	23.55	0.9	1.6
57	1	1	24	1.3	1.72
58	0	1	22.47	0.89	1.82
59	1	1	22.58	1.03	1.76
60	1	1	23.24	0.98	1.86
61	1	1	23.72	0.86	2.07
62	0	1	21.5	0.76	0.4
63	1	1	25.77	1.03	0.4
64	1	1	23.44	0.83	0.4
65	1	1	24.45	0.94	0.7
66	1	1	21.7	0.71	2.21
67	0	1	22.57	0.75	1.7
68	1	1	23.21	0.83	2.1
69	1	1	22.65	0.84	2.18
70	1	1	24.98	1.02	2.04
71	0	1	22.17	0.73	0.44
72	1	1	23.78	1.06	2.02
73	0	1	23.67	0.91	1.11
74	1	1	24.02	0.88	1.54
75	0	1	24.52	1.03	2.13
76	0	1	24.06	1.03	1.54
77	0	1	23.55	0.79	2.02
78	1	1	24.34	0.82	2.2
79	1	1	23.46	0.88	1.99
80	0	1	24.27	0.89	1.5
81	1	1	23.46	1.02	1
82	1	1	22.9	0.84	1.1

Código (ID) de hembra	Número de amplexos	Número de registros	Tamaño corporal	Peso	Altura de sustrato
83	1	1	24.01	1	3.21
84	0	1	23.98	0.84	2.8
85	1	1	23.41	0.83	4
86	1	1	22.97	0.86	2.29
87	1	1	23.02	0.98	1.5
88	0	1	23.04	1.04	2.27
89	1	1	24.91	0.98	2



# NEW DISTRIBUTION RECORDS WITH NOTES ON THE NATURAL HISTORY OF THREATENED FROGS (*PRISTIMANTIS TRIBULOSUS*, *NYPHARGUS ROSADA*, AND *CENTROLENE ANTIOQUIENSIS*) IN NORTHERN TOLIMA, COLOMBIA

## NUEVOS REGISTROS DE DISTRIBUCIÓN CON NOTAS DE HISTORIA NATURAL EN RANAS AMENAZADAS (*PRISTIMANTIS TRIBULOSUS*, *NYPHARGUS ROSADA* Y *CENTROLENE ANTIOQUIENSIS*) AL NORTE DEL TOLIMA, COLOMBIA

Ricardo Medina<sup>1,2,\*</sup>, Bibiana Tovar<sup>1,2</sup>, Willy Fernando Reyes-Torres<sup>2</sup> & Manuel H. Bernal<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Herpetología, Etología y Eco-fisiología, Universidad del Tolima, Ibagué, Tolima, Colombia.

<sup>2</sup>TropiCall: Corporación para la Conservación, Desarrollo e Investigación de los Andes Tropicales, Ibagué, Tolima, Colombia.

\*Correspondencia: [ramedinar1@gmail.com](mailto:ramedinar1@gmail.com)

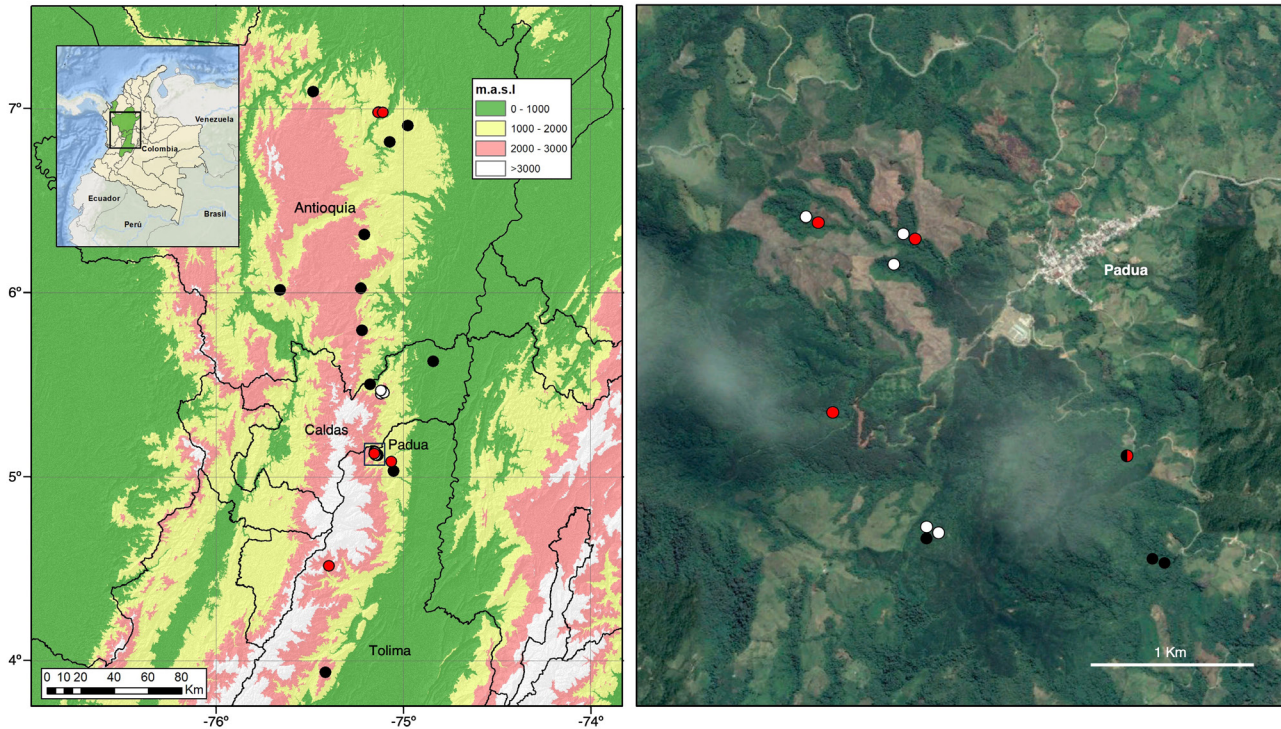
**Recibido:** 2024-01-06. **Aceptado:** 2024-06-12. **Published:** 2024-08-30.

**Editor:** Leticia Margarita Ochoa Ochoa, México.

The town of Herveo in the Department of Tolima, located in the Central Cordillera of the Tropical Andes in Colombia, is characterized by a wide topographic and environmental heterogeneity, ranging from 1,500 to 4,450 m a.s.l. (Alcaldía Municipal de Herveo, 2005; González, 2001). Historically, the biodiversity in this area has been poorly studied due to its complex topography and, until a few years ago, the influence of the armed conflict in Colombia (Pérez-Salazar, 2010). In Herveo, twelve species of amphibians have been reported from four families (Bufonidae: *Osornophryne percrassa*, Centrolenidae: *Espadarana prosoblepon*, Dendrobatidae: *Hyloxalus lehmanni*, Hylidae: *Boana platanera*, Strabomantidae: *Pristimantis taeniatus*, *P. permixtus*, *P. w-nigrum*, *P. viejas*, *P. gaigei*, *P. simoterus*, *Niceforonia adenobrachia*, and *N. latens*) (Ardila-Robayo et al., 1996; Clavijo-Garzón et al., 2018; Lynch, 1980; Ruiz-Carranza & Hernández-Camacho, 1976), all belonging to the Anura order. Three of these species are listed as threatened: *O. percrassa* (Vulnerable), *N. latens* (Vulnerable), and *N. adenobrachia* (Endangered) (Gómez et al., 2017a, b, c). This suggests that this area is an important habitat for the conservation of threatened species.

During a three-day field trip in May 2023, between 19:00 - 24:00 h in the Corregimiento de Padua (Herveo, Colombia) (5.132855° N, 75.143863° W, 2,077 m a.s.l., WGS84), we recorded three species of anurans: three individuals of *Centrolene antioquiensis* (Noble, 1920), five of *Nymphargus rosada* (Ruiz-Carranza & Lynch, 1997), and five of *Pristimantis tribulosus* (Lynch & Rueda-Almonacid, 1997) (Fig. 1). We measured snout-vent length (SVL) of all specimens with a Mitutoyo Absolute CD-6" CSX digital caliper (Table 1) and recorded advertisement calls of one male of *C. antioquiensis* and one male of *N. rosada* (Fig. 2, Table 1) located at two small streams

(Fig. 1). Calls were recorded with an Audio-Technica AT897 microphone in a ZOOM H6 recorder and for every single call, we recorded the air temperature with a Hygro-Thermometer RH101 Extech IR. Body and substrate temperatures were also recorded with a Klein tools IR5 dual laser infrared thermometer. Briefly, Raven Pro v1.6.5 (Cornell Lab of Ornithology, 2022) was used for acoustic analyses with 44.1 kHz sampling rate and 16 bits of resolution. The spectral parameters were analyzed with a fast Fourier transformation under the Blackman algorithm with 724 samples by window, a frequency grid with 2,048 samples using the discrete Fourier transform algorithm (DFT), and default values for other parameters. We extracted a suite of acoustic measures: call duration (CD), number of pulses (P), number of notes (N), peak frequency (PF), bandwidth (BW), and bandwidth 90 % (BW90), Lowest frequency (LF), and highest frequency (HF) following Medina et al. (2021). All spectral traits were measured 30 and 20 decibels below peak frequency for *N. rosada* and *C. antioquiensis*, respectively. Copies of the calls recorded were deposited at Fonoteca Zoológica ([www.fonozoo.com](http://www.fonozoo.com)) of the Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid, Spain (FZ-Sound-Code 14740 and 14741). The identification of *C. antioquiensis*, *N. rosada*, and *P. tribulosus* were carried out using morphological characteristics both life and ethanol-preserved specimens under a stereo microscope. Additionally, the species were confirmed through spectral and temporal characteristics of their calls. The specimens were euthanized with 5 % lidocaine, immersed in 10 % ethanol (ETOH), and subsequently deposited in 70 % ethanol within the Colección Zoológica de la Universidad del Tolima (CZUT) (Table 1). Fieldwork was carried out in strict adherence to the guidelines for work with amphibians and reptiles (Beaupre et al., 2004). Scientific collection permit was



**Figura 1.** Mapa de distribución histórica y nuevos registros para las especies *P. tribulosus*, *N. rosada* y *C. antioquiensis*. A la izquierda la distribución de las tres especies en Colombia. A la derecha la distribución de las especies en el Corregimiento de Padua (Herveo, Tolima, Colombia). Puntos negros: *N. rosada*, rojos: *C. antioquiensis* y blancos: *P. tribulosus*. A la derecha, la imagen satelital es tomada de Google Earth Pro v7.3.4.8248. La imagen muestra la fuerte deforestación y pérdida de hábitat en el Corregimiento de Padua. Las áreas con cobertura verde oscura son cultivos introducidos de pino (*Pinus patula* y *Pinus maximinoii*). En la imagen de la derecha el punto rojo y negro indica un pequeño arroyo donde se observaron en simpatria *C. antioquiensis* y *N. rosada*.

**Figure 1.** Historical distribution map and new records for the species *P. tribulosus*, *N. rosada* and *C. antioquiensis*. Left, distribution of the three species in Colombia. Right, distribution of species in Corregimiento de Padua (Herveo, Tolima, Colombia). Black dots: *N. rosada*, red dots: *C. antioquiensis*, and white dots: *P. tribulosus*. Right, satellite image taken from Google Earth Pro v7.3.4.8248. The image shows the strong deforestation and habitat loss in the Corregimiento de Padua. The areas with dark green forest cover represent introduced pine (*Pinus patula* and *Pinus maximinoii*) crops. Right image shows a small stream marked with black/red dot where *C. antioquiensis* and *N. rosada* were observed in sympatry.

provided to Grupo de Herpetología, Etología y Eco-fisiología of the Universidad del Tolima by the ANLA agency (Resolución No. 02252 de 2019).

*Centrolene antioquiensis* was determined based on: 1) the absence of vomerine teeth, 2) small and curved humeral spine, 3) green bones in life, 4) ulnar fold, 5) absent membrane between fingers I and II, reduced membrane between the outer toes, and 6) type I nuptial outgrowths (Rivera-Correa, 2010; Ruiz-Carranza & Lynch, 1997). Furthermore, the call recorded in Padua (Fig. 2) showed a pair of notes, each note consisting of repeated pulses with the last one longest in duration, although with a peak frequency slightly higher than the reported by Duarte-Marín et al. (2022) (Table 2). On the other hand, *N. rosada* individuals showed: 1) Absence of vomerine teeth, 2) truncated rostrum in dorsal and lateral view, 3) visible tympanum, 4) pericardium and parietal peritoneum covered by iridophores, 5) absence of humeral

spine, and 6) absent interdigital membranes between fingers I - III (Patiño-Ocampo et al., 2022; Ruiz-Carranza & Lynch, 1997). The call of *N. rosada* consisted of a single note, with a duration and peak frequency similar to that reported by Duarte-Marín et al. (2022) (Table 2; Fig. 2). *P. tribulosus* was identified based on: 1) numerous conical tubercles, 2) snout long, acuminate in dorsal view, protruding in lateral profile; canthus rostralis sharp, 3) long row ulnar tubercles, including one on the elbow, 4) heel with large calcar tubercle, conical tubercles on the underside of tarsus, tubercles along inner and outer margins of tarsus, 5) metatarsal tubercles, 6) upper eyelid bearing large conical tubercle on posterior third, and 7) one or two conical tubercles on the knee. Regarding eye color, the original description does not report it, however, Duarte-Marín et al. (2018) show a light green iris, with reticulation in the lower part of the eye and a brown longitudinal triangular stripe. Observations of individuals from Padua show creamy white irises, reticulated in the lower part of the eye and

**Tabla 1.** Nuevos registros de distribución de tres ranas en el municipio de Herveo (Tolima, Colombia). CZUT = código de la Colección Zoológica de la Universidad del Tolima. SVL = longitud rostro cloaca. Wg = peso en gramos. T = Temperatura, b = cuerpo, s = sustrato, e = ambiente. RH = humedad relativa. Los asteriscos (\*) indican los cantos registrados (Tabla 2, Fig. 2). El último registro de *C. antioquiensis* no fue colectado. Elevación en m s.n.m.

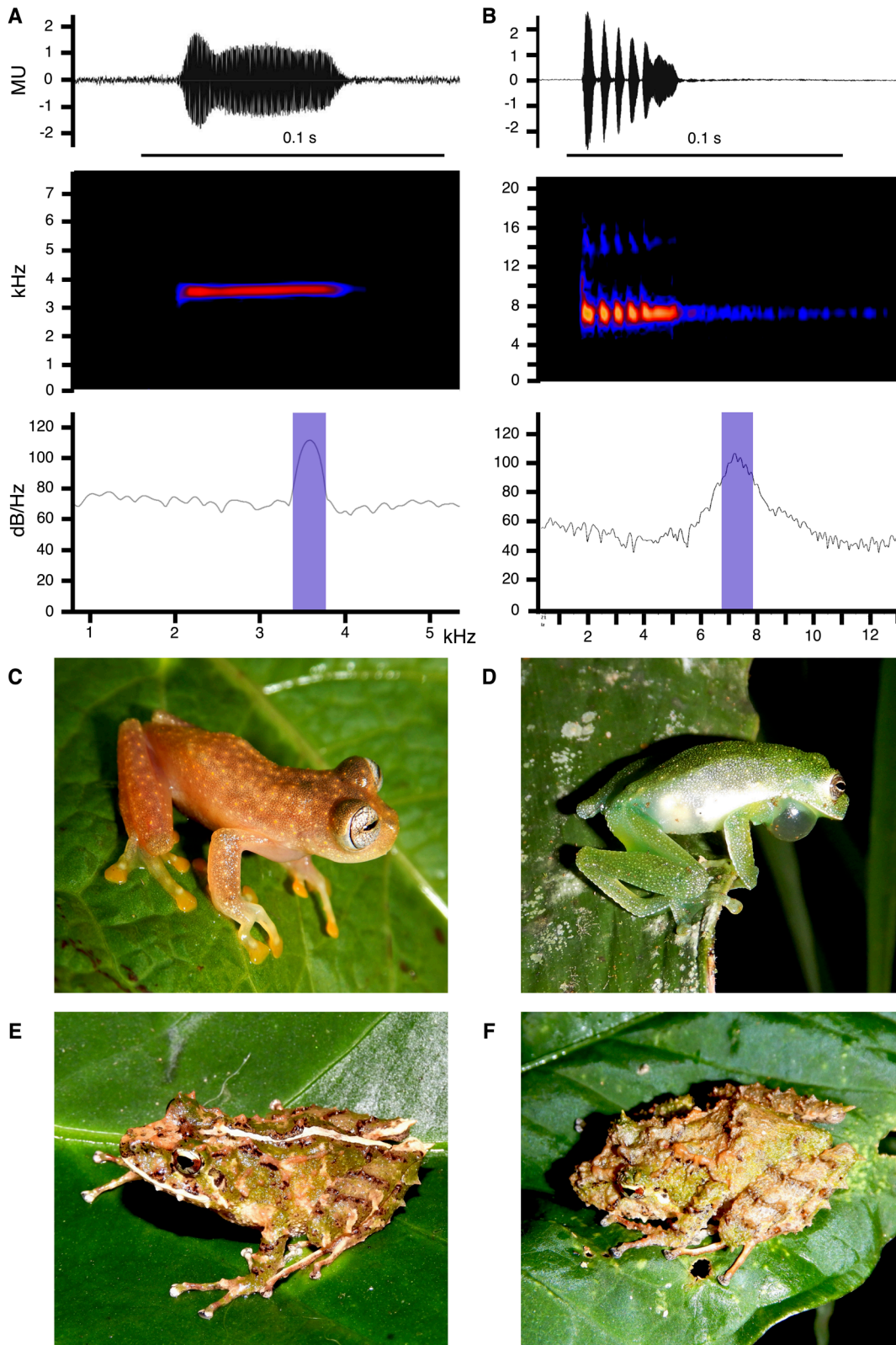
**Table 1.** New records of distribution of three frogs in Herveo town (Tolima, Colombia). CZUT: code of the Colección Zoológica de la Universidad del Tolima. SVL = Snout-vent length. Wg = Weight in grams. T = Temperature, b = body, s = substrate, e = environment. RH = Relative humidity. Asterisks (\*) indicate species with call recorded (see Table 2, Fig. 2). The last record of *C. antioquiensis* was not collected. Elevation in m a.s.l.

Voucher	Species	SVL (mm)	Wg (g)	T.b (°C)	T.s (°C)	T.e (°C)	RH (%)	Coordinates	Elevation
CZUT-3161	<i>Pristimantis tribulosus</i>	30.54	1.8	17.8	17.5	19.7	30	5.13324 -75.15196	2,213
CZUT-3165	<i>Pristimantis tribulosus</i>	15.86	-	16.7	16.6	18	55	5.13534 -75.15479	2,252
CZUT-3166	<i>Pristimantis tribulosus</i>	27.77	-	16.7	16.8	15.9	88	5.1192 -75.15069	2,164
CZUT-3164	<i>Pristimantis tribulosus</i>	17.53	0.57	15.8	15.8	18.8	46	5.13539 -75.15479	2,253
CZUT-3162	<i>Pristimantis tribulosus</i>	29.41	2.35	-	19.8	19.3	47	5.11938 -75.15031	2,039
CZUT-3163	<i>Pristimantis tribulosus</i>	29.44	2.68	-	18	19.8	46	5.11837 -75.15044	2,039
CZUT-3157	<i>Nymphargus rosada</i>	26.26	1.3	-	-	-	-	5.11716 -75.13875	1,895
CZUT-3155	<i>Nymphargus rosada</i>	26.7	1.59	-	-	-	-	5.11799 -75.13946	1,881
CZUT-3158	<i>Nymphargus rosada</i> *	26.78	1.25	-	-	18.8	62	5.11785 -75.13921	1,898
CZUT-3156	<i>Nymphargus rosada</i>	25.53	1.1	-	-	-	-	5.11777 -75.13944	1,884
CZUT-3159	<i>Nymphargus rosada</i>	26.57	1.2	-	-	-	-	5.11785 -75.13921	1,898
CZUT-3160	<i>Centrolene antioquiensis</i> *	21.81	1.05	15.2	15	20.3	41	5.14059 -75.15445	2,218
CZUT-3152	<i>Centrolene antioquiensis</i>	22.3	0.86	13.9	13.9	19.6	38	5.13486 -75.15444	2,226
-	<i>Centrolene antioquiensis</i>	-	-	-	-	-	-	5.12674 -75.15557	2,278

with a burgundy longitudinal triangular stripe (Fig. 2). Lastly, the dorsal color pattern of one individual showed a thick cream-colored line from the interorbital area to the cloaca (Fig. 2). No calls of this species were recorded.

Amphibians are the most threatened vertebrate group worldwide (Luedtke et al., 2023; Stuart et al., 2008). The most of threatened amphibians in Colombia are endemic, known from only one locality, and some occur in protected areas (Rueda-Almonacid et al., 2004). However, protected areas alone are not sufficient to ensure the survival and long-term conservation of species (Watson & Castillo, 2022; Williams et al., 2022). *Pristimantis tribulosus* is a species of rain frog categorized by the IUCN as Critically Endangered (Castro et al., 2017), endemic to the protected area Parque Nacional

Natural (PNN) Selva de Florencia (Caldas, Colombia). Since its description in 1997, this frog has only been sporadically reported within the Selva de Florencia (Duarte-Marín et al., 2018; Lynch & Rueda-Almonacid, 1997), an area covering 100.2 km<sup>2</sup> on the eastern flank of the Central Cordillera of the Tropical Andes in Colombia. Unfortunately, this protected area is not connected with other areas and there are no records of this species outside of its locality. Therefore, our findings in Padua represent the first report of *P. tribulosus* beyond its type locality. Thus, we extend the range of *P. tribulosus* to the south by approximately 38 km (linear distance) from Selva de Florencia. In addition, our report suggests that *P. tribulosus* is not necessarily endemic to the Selva de Florencia, and consequently, so nearby conserved areas could represent remnant populations for this species.



**Figura 2.** Cantos de anuncio y morfología de las especies registradas. A) *N. rosada*, B) *C. antioquiensis*, C) macho cantando de *N. rosada*, D) macho cantando de *C. antioquiensis*, E) y F) dos hembras de *P. tribulosus*. Los cantos registrados se pueden escuchar en [www.fonozoo.com](http://www.fonozoo.com) con los códigos FZ-Sound-Code 14740 and 14741. Los cantos se muestran en forma de onda, espectrograma y espectro de potencia. El azul oscuro destaca el ancho de banda (BW) medido 30 (A) y 20 (B) decibeles por debajo de la frecuencia máxima. B) forma de la onda de una sola nota del canto de *C. antioquiensis*. Las mediciones de los cantos se pueden ver en la Tabla 2. Fotos: Ricardo Medina.

**Figure 2.** Advertisement calls and morphology of recorded species. A) *N. rosada*, B) *C. antioquiensis*, C) male calling of *N. rosada*, D) male calling of *C. antioquiensis*, E) and F) two females of *P. tribulosus*. Copies of calls recorded can be heard at [www.fonozoo.com](http://www.fonozoo.com) (FZ-Sound-Code 14740 and 14741). Calls are shown in waveform, spectrogram, and power spectrum. The dark blue highlights the bandwidth (BW) measured 30 (A) and 20 (B) decibels below peak frequency. B) waveform of a single note of *C. antioquiensis* call. The measurements of the calls can be seen in Table 2. Photos: Ricardo Medina.



**Tabla 2.** Comparación de las variables acústicas. Duración del canto (CD) en segundos. Todos los parámetros espectrales se midieron en kHz. El (\*) indica datos no reportados. La temperatura ambiental y humedad relativa de *N. rosada* fue de 18.8 °C and 62 %, respectivamente. La temperatura ambiental, del sustrato y del cuerpo, y la humedad relativa de *C. antioquiensis* fueron 20.3 °C, 15 °C, 15.2 °C, and 41 %, respectivamente. Los parámetros se describen en el texto.

**Table 2.** A comparative suite of acoustic measures. Units of call duration (CD) is in seconds. All spectral parameters are in kHz. (\*) indicates not reported data. Environmental temperature and relative humidity of *N. rosada* were 18.8 °C and 62 %, respectively. Environmental temperature, substrate temperature, body temperature, and relative humidity of *C. antioquiensis* were 20.3 °C, 15 °C, 15.2 °C, and 41 %, respectively. See text for parameter description.

Parameter		<i>Nymphargus rosada</i>		<i>Centrolene antioquiensis</i>	
		This study (N = 23)	Duarte-Marín et al., 2022	This study (N = 14)	Duarte-Marín et al., 2022
<b>CD</b>	Mean	0.057 ± 0.002	0.060 ± 0.004	0.035 ± 0.003	*
	range	0.052 - 0.063	0.049 - 0.068	0.031 - 0.040	0.044 - 0.046
<b>N</b>	Mean	1	1	2	2.5 ± 0.3
	range	1	1	2	1 - 4
<b>P</b>	Mean	*	*	5 ± 1	7.4 ± 2.5
	range	*	*	4 - 7	5 - 12
<b>PF</b>	Mean	3.583 ± 0.014	3.94 ± 0.11	7.117 ± 0.137	6.99 ± 0.02
	range	3.553 - 3.618	3.79 - 4.04	6.891 - 7.321	6.965 - 7.02
<b>LF</b>	Mean	3.386 ± 0.023	*	6.607 ± 0.177	*
	range	3.309 - 2.411	*	6.247 - 6.857	*
<b>HF</b>	Mean	3.763 ± 0.012	*	7.860 ± 0.093	*
	range	3.743 - 3.783	*	7.689 - 8.011	*
<b>BW</b>	Mean	0.377 ± 0.027	*	1.253 ± 0.150	*
	range	0.345 - 0.469	*	0.982 - 1.548	*
<b>BW90</b>	Mean	0.167 ± 0.013	*	0.658 ± 0.055	*
	range	0.151 - 0.194	*	0.517 - 0.754	*

*Nymphargus rosada* and *C. antioquiensis* are classified as Vulnerable (Quevedo et al., 2017) and Near Threatened (Molina et al., 2017) respectively, and both are found in the Central

Cordillera of Colombia. In Tolima, the Padua locality represents the third known occurrence of these species, marking the first report of sympatry (Fig. 1). This finding also suggests that the

environmental conditions and habitat between Padua and Selva de Florencia, a protected area where these three species are also present, seem to be similar. Thus, conserving the small patches in this new locality becomes crucial for enhancing connectivity among protected areas and facilitating gene flow between populations of these species. On the other hand, the Guarín River Canyon is a significant geographic barrier, which separates the Tolima populations from those of Selva de Florencia. This barrier may also contribute to genetic structure between these populations, potentially explaining the observed variation in *P. tribulosus*. Future systematic studies employing genetic markers could validate the phenotypic differences detected.

We also observed a thanatosis behavior in *P. tribulosus* and a broad range of coloration patterns, suggesting a polymorphic variation in this species. Moreover, we noted a discernible shift in coloration patterns between nocturnal activity and diurnal rest, with a darker color observed during the daytime.

We could not record the call of *P. tribulosus*, which may be due to a potential late-night or early-morning activity pattern. During our field trips, we sporadically heard a few calls both at night and during the day, likely from *P. tribulosus* as it was the only species found in this area. Given the limited observations of *P. tribulosus*, we plan to use passive acoustic monitoring in the future to capture the call and better understand its activity pattern.

While our records are favorable for the conservation of the threatened species *P. tribulosus* and *N. rosada*, extensive deforestation (Fig. 1) and the habitat shift into an agricultural matrix indicate potential displacement of these species to the edge of their habitat. Consequently, these species face ongoing significant threats from habitat loss within their distribution range.

The amphibian species recorded in Herveo now stands at fifteen, including five threatened frogs. Herveo exhibits substantial environmental heterogeneity due to its extensive altitudinal range (around 3,000 m a.s.l.), suggesting that amphibian biodiversity in the area may be underestimated.

Our current understanding is based on only three systematic expeditions conducted in Herveo over the past 60 years. Thus, it becomes imperative to undertake future expeditions to monitor the reported species. Moreover, these expeditions can identify new areas that may contribute to expand the records of amphibians, potentially supporting new protected areas or enhancing connectivity between these, contributing to the overall conservation efforts. Finally, we encourage future studies

on these threatened frogs in ecology, behavior, physiology, evolution, natural history, and population trends to reduce their threat level and improve effective monitoring and conservation strategies.

**Acknowledgments.** - The teachers of the natural sciences Rosa Maria Giraldo and Juan David Perez from the Juan XXIII school, to the rector Dalila Uribe and her students, for their support and collaboration in environmental education activities. The community of Padua especially Flor, Lorena, Henry, Natalia, Monica, Nancy, Deisy, Rocío, Martha, and its authorities. The Rufford Foundation for the financial grant (38948-1) and the NGOs Escalando Futuro and TropiCall for their financial and scientific support. We would also like to thank Grupo de Herpetología, Etología y Eco-fisiología of the Universidad del Tolima for obtaining the scientific collection permit from the ANLA agency (Resolution No. 02252 of 2019).

## CITED LITERATURE

- Alcaldía Municipal de Herveo. 2005. Esquema de Ordenamiento Territorial (EOT), Informe técnico de estudios biofísicos. Diagnostico Técnico, Herveo, Tolima, Colombia.
- Ardila-Robayo, M.C., P.M. Ruiz-Carranza & M. Barrera-Rodríguez. 1996. Una nueva especie de *Phrynomus* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) de la Cordillera Central Colombiana. *Lozania* 67:1-10.
- Beaupre, S.J., E.R. Jacobson, H.B. Lillywhite & K. Zamudio. 2004. Guidelines for use of live amphibians and reptiles in field and laboratory research. Herpetological Animal Care and Use Committee (HACC) of the American Society of Ichthyologists and Herpetologists, USA.
- Castro, F., G. González-Duran, J.D. Lynch & M. Herrera. 2017. *Pristimantis tribulosus*, in: IUCN Red List of threatened species. Version 2023-1. <http://www.iucnredlist.org> [Consultado en noviembre 2023]
- Clavijo-Garzón, S., J.A. Romero-García, M.P. Enciso-Calle, A. Viuche-Lozano, J. Herrán-Medina, M.A. Vejarano-Delgado & M.H. Bernal. 2018. Lista actualizada de los anfibios del departamento del Tolima, Colombia. *Biota Colombiana* 19:64-72.
- Duarte-Marín, S., C. González-Acosta & F. Vargas-Salinas. 2018. Estructura y composición de ensamblajes de anfibios en tres tipos de hábitat en el Parque Nacional Natural Selva de Florencia,



- Cordillera Central de Colombia. Revista de La Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales 42:227-236.
- Duarte-Marín, S., M. Rada, M. Rivera-Correa, V. Caorsi, E. Barona, G. González-Durán & F. Vargas-Salinas. 2022. Tic, Tii and Trii calls: advertisement call descriptions for eight glass frogs from Colombia and analysis of the structure of auditory signals in Centrolenidae. *Bioacoustics* 32:143-180.
- Gómez, D., F. Castro, F. Vargas-Salinas, G.A. González-Durán, J.D. Lynch, M.H. Bernal, M. Herrera, P. Gutiérrez & W. Bolívar. 2017b. *Hypodactylus latens*, in: IUCN Red List of threatened species. Version 2023-1. <http://www.iucnredlist.org> [Consultado en noviembre 2023]
- Gómez, D., F. Vargas-Salinas, G. Chaves, G.A. González-Durán, J.D. Lynch, M.H. Bernal, O. Cortés, P. Gutiérrez & W. Bolívar. 2017a. *Osornophryne percrassa*, in: IUCN Red List of threatened species. Version 2023-1. <http://www.iucnredlist.org> [Consultado en noviembre 2023]
- Gómez, D., F. Castro, F. Vargas-Salinas, G.A. González-Durán, J.D. Lynch, M.H. Bernal, M. Herrera, P. Gutiérrez & W. Bolívar. 2017c. *Niceforonia adenobrachia*, in: IUCN Red List of threatened species. Version 2023-1. <http://www.iucnredlist.org> [Consultado en noviembre 2023]
- González, H. 2001. Geología de las Planchas 206 Manizales y 225 Nevado del Ruiz. Colombia. INGEOMINAS. Bogotá, Colombia.
- Lynch, J.D. 1980. New species of *Eleutherodactylus* of Colombia (Amphibia: Leptodactylidae). I: Five new species from the paramos of the Cordillera Central. *Caldasia* 13:165-188.
- Lynch, J.D. & J.V. Rueda-Almonacid. 1997. Three new frogs (*Eleutherodactylus*: Leptodactylidae) from cloud forests in eastern Departamento Caldas, Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 21:131-142.
- Luedtke, J.A., J. Chanson, K. Neam, L. Hobin, A.O. Maciel, A. Catenazzi, A. Borzée, A. Hamidy, A. Aowphol, A. Jean, Á. Sosa-Bartuano, G.A. Fong, A. de Silva, A. Fouquet, A. Angulo, A.A. Kidov, A. Muñoz Saravia, A.C. Diesmos, A. Tominaga, ... S.N. Stuart. 2023. Ongoing declines for the world's amphibians in the face of emerging threats. *Nature* 622:308-314.
- Medina, R., G.O.U. Wogan, K. Bi, F. Termignoni-García, M.H. Bernal, J.P. Jaramillo-Correa, I.J. Wang & E. Vázquez-Domínguez. 2021. Phenotypic and genomic diversification with isolation by environment along elevational gradients in a neotropical treefrog. *Molecular Ecology* 30:4062-4076.
- Molina, C., J.D. Lynch, L. Bravo & W. Bolívar. 2017. *Centrolene antioquiensis*, in: IUCN Red List of threatened species. Version 2023-1. <http://www.iucnredlist.org> [Consultado en noviembre 2023]
- Noble, G.K. 1920. Two new batrachians from Colombia. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 42:441-446.
- Patiño-Ocampo, E., M. Montoya-Marín, H. Correa-Medina, G.M. Jiménez-Vargas & S. Duarte-Marín. 2022. *Nymphargus rosada* (Ruiz-Carranza & Lynch, 1997). *Catálogo de Anfibios y Reptiles de Colombia* 8:62-68.
- Pérez-Salazar, B. 2010. Expresiones regionales del paramilitarismo en Colombia: El caso del “Bloque Tolima” de las AUC. *Nuevos Paradigmas de las Ciencias Sociales Latinoamericanas* 1:53-90.
- Quevedo, A., D. Gómez, D. Mejía, F. Vargas-Salinas, G.A. González-Durán, J.D. Lynch, M.H. Bernal, O. Cortés, P. Gutiérrez & W. Bolívar. 2017. *Nymphargus rosada*, in: IUCN Red List of threatened species. Version 2023-1. <http://www.iucnredlist.org> [Consultado en noviembre 2023]
- Rivera-Correa, M. 2010. Amphibia, Centrolenidae, *Centrolene antioquiense* (Noble, 1920): New records and geographical distribution in Colombia. *Check List* 6:220-221.
- Rueda-Almonacid, J.V., J.D. Lynch & A. Amézquita. 2004. Libro Rojo de los Anfibios de Colombia. Serie de libros rojos de especies amenazadas de Colombia. Conservación internacional Colombia, Instituto de Ciencias Naturales Universidad Nacional de Colombia, Ministerio del Medio Ambiente. Bogotá, Colombia.
- Ruiz-Carranza, P.M. & J.I. Hernández-Camacho. 1976. *Osornophryne*, genero nuevo de anfibios bufonidos de Colombia y Ecuador. *Caldasia* 11:93-148.
- Ruiz-Carranza, P.M. & J.D. Lynch. 1997. Ranas Centrolenidae de Colombia X. Los centrolénidos de un perfil del flanco oriental de la Cordillera Central en el Departamento de Caldas. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 21:541-553.
- Stuart, S.N., M. Hoffmann, J. Chanson, N. Cox, R. Berridge, P. Ramani & B. Young. 2008. *Threatened amphibians of the world*: Lynx Edicions, Barcelona, España.



Watson, A.S. & L. Castillo. 2022. Are protected areas working for endangered frogs in the Peruvian Andes?. *Biodiversity and Conservation* 31:1847-1866.

Williams, D.R., C. Rondinini & D. Tilman. 2022. Global protected areas seem insufficient to safeguard half of the world's mammals from human-induced extinction. *PNAS* 119:1-8.



# IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS ASOCIADAS A LA PIEL DE LAS RANAS DEL HUMEDAL DE LA CIUDAD DE BENJAMÍN ACEVAL, PARAGUAY, A PARTIR DE MÉTODOS BACTERIOLÓGICOS Y EL MÉTODO AUTOMATIZADO VITEK®

IDENTIFICATION OF BACTERIA ASSOCIATED WITH THE SKIN OF FROGS FROM BENJAMÍN ACEVAL CITY WETLAND, PARAGUAY, USING BACTERIOLOGICAL METHODS AND THE AUTOMATED VITEK®

Jose Petters<sup>1,2,3\*</sup>, Mirian Alonso<sup>2</sup>, Laura Ibarrola<sup>2</sup> & Teresa Sotelo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Itaipu Binacional, MD, Ciudad del Este, Paraguay.

<sup>2</sup>Servicio Nacional de Calidad y Salud Animal-SENACSA-Paraguay, Asunción, Paraguay.

<sup>3</sup>Universidad San Carlos, Asunción, Paraguay.

\*Correspondence: [gaspapy@hotmail.com](mailto:gaspapy@hotmail.com)

Received: 2024-03-13. Accepted: 2024-06-19. Published: 2024-08-30.

Editor: Pier Cacciali, Paraguay.

**Abstract.** – Altered ecological interactions between mutualistic microbes and hosts can lead to diseases, but understanding the interactions between the host, disease-causing microbes, and environment can contribute to strategies for disease prevention. The main objective of this work is to identify the microbial flora accompanying the skin of amphibians from the city of Benjamín Aceval, from skin swabs and microbiological, automated and biochemical techniques. A total of 40 skin swabs were collected corresponding to seven different species of amphibians. The results demonstrated the presence of the bacteria *Aeromana hydrophila/punctata* (caviae), *Enterobacter cloacae* complex, *Citrobacter freundii*, *Vibrio vulnificus*, *Ochractrum antropi*, *Serratia fonticola*, *S. liquefaciens*, and *Klebsiella oxytoca*. This work demonstrates the importance of analyzing and monitoring of free-living amphibians to avoid possible mass mortality crises and generate future management plans.

**Keywords.** – Anurans, culture, microbiology.

**Resumen.** – Las interacciones ecológicas alteradas entre los microbios mutualistas y los huéspedes pueden provocar enfermedades, pero la comprensión de las interacciones entre el huésped, los microbios y ambiente causantes de enfermedades puede contribuir a estrategias para la prevención de enfermedades. El objetivo principal de este trabajo es identificar la flora microbiana acompañante de la piel de los anfibios de la ciudad de Benjamín Aceval, a partir de hisopados de piel y técnicas microbiológicas, automatizadas y bioquímicas. Se colectaron un total de 40 hisopados de piel correspondientes a siete especies distintas de anfibios. Los resultados demostraron la presencia las bacterias *Aeromana hydrophila/punctata* (caviae), *Enterobacter cloacae* complex, *Citrobacter freundii*, *Vibrio vulnificus*, *Ochractrum antropi*, *Serratia fonticola*, *S. liquefaciens* y *Klebsiella oxytoca*. Este trabajo demuestra la importancia de los análisis y monitoreo de los anfibios en vida libre para evitar posibles crisis de mortandades masivas y generar planes de manejo a futuro.

**Palabras clave.** – Anuros, cultivo, microbiología.

## INTRODUCCIÓN

Los anfibios han adquirido gran importancia en los últimos tiempos, no solo debido a su rol en el equilibrio del ecosistema, sino como controladores naturales de determinados insectos y otros artrópodos que pueden resultar incluso nocivos para la salud pública, y también servir como biomasa dentro de la pirámide trófica, sino también, por los rasgos ecológicos y

filogenéticos que los hacen aún más interesantes a la hora de estudiarlos. Además, son considerados buenos indicadores de salud ambiental, dada la sensibilidad de sus fases larvianas a los contaminantes del agua y a que pasan la mayor parte de su vida en relación con el agua (Simons et al., 1997; Diaz Paez & Ortiz, 2003).

La piel de los anfibios alberga una microbiota bastante diversa y muchos de estos organismos pueden resultar beneficiosos por formar parte del sistema inmune adquirido (defensa cutánea), o por poseer actividad antimicrobiana y antifúngica contra otros determinados agentes que pueden presentarse en la piel pero resultar perjudiciales para el hospedero, incluido el quitridio *Batrachochytrium dendrobatidis* y otros patógenos potenciales, y que estos agentes pueden ser controlados de forma natural por otros microorganismos presentes en la piel de los anfibios, pero cuando las condiciones ambientales no son las óptimas, estos que resultaban beneficiosos podrían volverse patógenos y potenciar la virulencia de los demás agentes (Woodhams et al., 2007; Flechas et al., 2012).

Existen varios métodos que permiten identificar la presencia de bacterias a través de medios de cultivo nutritivos, medios diferenciales y selectivos que ayudan a la búsqueda del cultivo puro (Webb, 2010). El VITEK® que es un dispositivo automatizado que realiza la identificación y caracterizados de las bacterias por medio de espectrometría que utiliza la tecnología de desorción/ionización láser asistida por matriz - Tiempo de vuelo (MALDI-TOF) (Jordá Vargas et al., 2005). El método de Enterosystem es una prueba practica y fácil de realizar, que se basa en la identificación de las colonias a partir de 24 pruebas bioquímicas en un panel de pocillos enfocado principalmente en Enterobacteriaceae gramnegativas y oxidasas negativas (Johnson & Wellehan, 2005).

Existen varios agentes bacterianos que pueden encontrarse en la piel de los anfibios, estos pueden resultar tanto beneficiosos como perjudiciales y tornarse patógenos. La comprensión de las asociaciones existentes en la piel es importante para poder determinar cuáles son los factores que pueden desencadenar las distintas enfermedades y poner en riesgo la salud de las poblaciones o comunidades de anfibios en determinados biomas. El objetivo de este trabajo es identificar la composición bacteriana de la piel de los anfibios en la ciudad de Benjamín Aceval, Departamento de Presidente Hayes, Paraguay, a partir de cultivos bacterianos, pruebas bioquímicas y automatizadas con la máquina VITEK®

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Area de estudio

Se encuentra demarcada en los humedales periurbanos de ciudad de Benjamín Aceval, Departamento de Presidente Hayes (Fig. 1), iniciándose en las coordenadas (24° 59' 51" S y 57° 32' 29" W), en el que se trazó un polígono, de ~5 km de perímetro y un área de 1.5 km<sup>2</sup>, en donde se muestreó un humedal localizado a unos 200 m del casco urbano, el mismo presentaba un cuerpo de agua principal de una dimensión aproximada de 400 m de largo por 170 m de ancho, continuado de una porción pantanosa, característicos los bosques fluviales y las áreas deprimidas con alta cobertura de vegetación flotante libre, embalsados y camalotales, así como también, juncales y totorales, con una predominancia de sabanas con palmera caranday, también se puede denotar la presencia de animales domésticos en el área de estudios, principalmente bovinos y gallinas, (Mereles et al., 2015). El estudio de campo se llevó a cabo durante los días 10 y 14 de mayo de 2023 y el trabajo de laboratorio se extendió hasta junio del mismo año.

### Colecta de datos.

Para la colecta de los individuos se contó con el permiso de colecta del Ministerio del Ambiente y Desarrollo Sostenible (MADES N° 006/2023). Se capturó la mayor cantidad posible de anfibios, durante las últimas horas luz de sol del día y abarcando un poco la entrada de la noche, siguiendo el protocolo de Pereyra et al. (2021) para búsqueda activa y captura.

Se realizaron frotis cutáneos, realizando 5 a 10 pasadas con hisopos estériles de algodón, en la región ventral, inguinal y plantar, como se observa en la Figura 2. Los hisopos se introdujeron en tubos de ensayo de 10 ml con medio TGHl caldo y se realizaron siembras *in situ* en placas de Petri con el medio gel TGHl (Ramírez-Castro, 2010; OIE, 2021), para posteriormente utilizar las muestras sembradas en las placas de petri y dejar las muestras sembradas en el caldo como duplicados.

Cada ejemplar fue medido y pesado, teniendo en cuenta las medidas del hocico a la cloaca, utilizando un calibre y balanzas digitales, para luego realizar un promedio de las medidas por especie. Las especies fueron identificadas con base en Weiler et al. (2013) y la taxonomía sigue a Frost (2023). Posteriormente al hisopado, la medición de los individuos, y su identificación, estos fueron liberados en el mismo sitio de captura. Las muestras fueron trasladadas hasta el laboratorio de microbiología del Servicio Nacional de Calidad y Salud Animal (SENACSA).

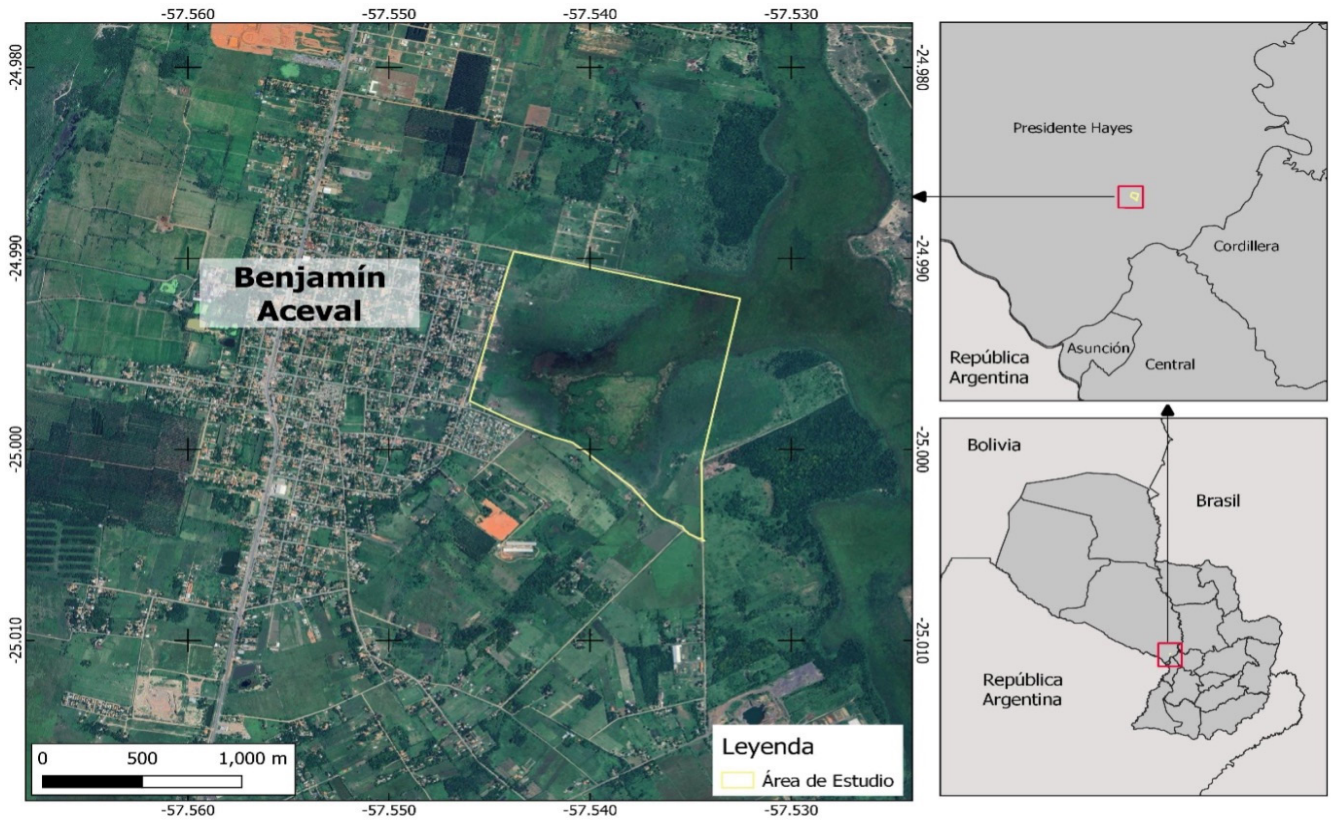


Figure 1. Polygon delimiting the study area for sample collection, located in the peri-urban wetland of the city of Benjamin Aceval.

Figura 1. Polígono delimitando el área de estudio para colecta de muestras, ubicado en el humedal periurbano de la ciudad de Benjamin Aceval.



Figure 2. Swab of captured individuals. / Figura 2. Hisopado de los individuos capturados.

## Análisis de laboratorio

Las muestras se incubaron a una temperatura de entre 17 y 23 °C y se realizaron observaciones diarias de los crecimientos presentados en las placas. La manipulación de las colonias se realizó en un entorno estéril a fin de evitar contaminantes ambientales, utilizando cabinas de flujo laminar y materiales estériles.

Las colonias de bacterias provenientes de las placas de Petri fueron repicadas a modo de obtener colonias puras y jóvenes, para realizar una identificación bioquímica por el método de Enterosystem y también fueron caracterizadas morfológicamente (Johnson & Wellehan, 2005). Los repiques fueron realizados en Placas de Agar Mac Conkey y TSA, a modo de tener crecimientos más puros y aislados, y fueron procesadas en el VITEK® y por la técnica Bioquímica Enterosystem, mientras que las colonias sembradas en los medios caldo se guardaron a modo de duplicados.

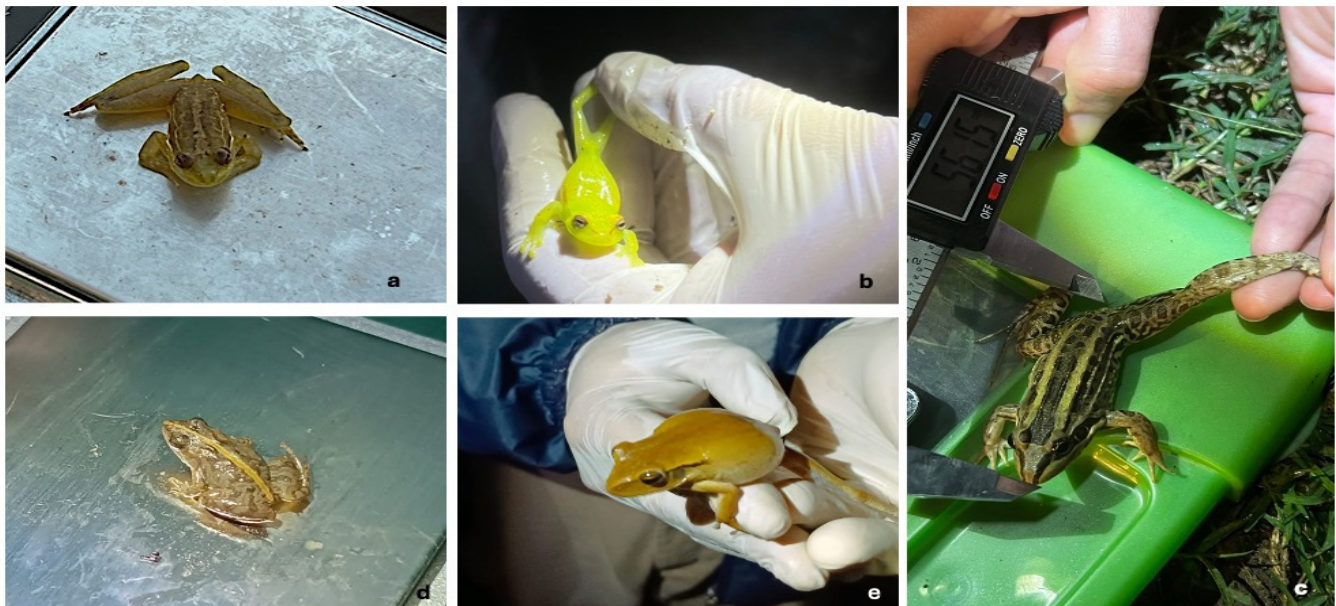
## RESULTADOS

Durante la primera campaña de colecta (10 de mayo de 2023) se capturaron 25 individuos, 10 correspondientes a la especie *Lysapsus limellum* (Fig. 3 a), 10 de *Boana punctata* (Fig. 3 b), dos de *Leptodactylus luctator* (Fig. 3 c), dos de *Dendropsophus nanus* y una

de *Leptodactylus podicipinus*. En la segunda campaña (14 de mayo de 2023) se colectaron 15 individuos, ocho de *Lysapsus limellum*, tres de *Pseudopaludicola boliviana* (Fig. 3 d), una de *Leptodactylus luctator*, una de *Dendropsophus nanus*, una de *Boana punctata* y una de *Boana raniceps* (Fig. 3 e).

Todos los individuos se encontraron en reposo o vocalizando, dentro del cuerpo de agua explorado, con algunas excepciones en las que los ejemplares se encontraban en áreas más alejadas. Ninguno de los animales capturados presentaba síntomas de afecciones o lesiones que pueda llamar la atención

Los pesos y dimensiones del hocico a la cloaca en promedio fueron los siguientes: 18 individuos de *Lysapsus limellum* cuya longitud hocico cloaca es  $0.59 \pm 0.10$  (0.42 - 0.80) y cuya masa corporal es  $16.79 \pm 2.76$  (06.93 - 20.01); 11 individuos de *Boana punctata*, cuya longitud hocico cloaca es  $1.91 \pm 0.27$  (1.59 - 2.27) y cuya masa corporal es  $29.60 \pm 1.85$  (26.13 - 31.58); tres individuos de *Dendropsophus nanus*, cuya longitud hocico cloaca es  $0.23 \pm 0.14$  (0.10 - 0.38) y cuya masa corporal es  $15.09 \pm 2.69$  (12.71 - 17.43); tres individuos de *Pseudopaludicola boliviana*, cuya longitud hocico cloaca es  $0.23 \pm 0.06$  (0.20 - 0.30) y cuya masa corporal es  $12.85 \pm 1.70$  (10.96 - 14.26); tres individuos de *Leptodactylus luctator*, cuya longitud hocico cloaca es  $49.33 \pm 17.62$  (29.00 - 60.00) y cuya masa corporal es  $83.02 \pm 24.31$  (56.15 - 103.48); como *Leptodactylus*



**Figure 3.** Species captured and sampled, swabs in media: a. *Lysapsus limellum*; b. *Boana punctata*; c. *Leptodactylus luctator*; d. *Pseudopaludicola boliviana*; e. *Boana raniceps*.

**Figura 3.** Especies capturadas y muestreadas, hisopados en medios: a. *Lysapsus limellum*; b. *Boana punctata*; c. *Leptodactylus luctator*; d. *Pseudopaludicola boliviana*; e. *Boana raniceps*.



*podicipinum* y *Boana raniceps* solo presentaron un individuo respectivamente, no se realizaron las caracterizaciones (Tabla 1).

Del total de las placas, 13 presentaron colonias bacterianas que presentaban características típicas como Colonias rosadas, blancas, amarillas y/o cremosas, las cuales fueron repicadas en Agar MacConkey y TSA (Fig. 4), para aislarlas del resto de las colonias y obtener colonias más puras, para realizarles las

pruebas de VITEK® y también por el método de Enterosystem en pocillos para identificar Enterobacteriaceae gramnegativas y oxidasas negativas (Tabla 1).

En cuanto a los resultados microbiológicos para detectar las bacterias presentes en los cultivos a partir del VITEK® se obtuvieron los siguientes resultados: Tres placas con crecimiento de *Aeromana hydrophila/punctata* (caviae), tres con *Enterobacter*

**Table 1.** Results of microbiological tests for detection of bacteria and measurements taken.

**Tabla 1.** Resultados de las pruebas microbiológicas para detección de bacterias y medidas tomadas.

No. de muestra	Especie	Peso (gr)	Longitud hocico-cloaca (cm)	Resultado para colonia bacteriana	Resultado VITEK®	Resultado Enterosystem
1	<i>Lysapsus limellum</i>	0.42	15.22	No se observan colonias sospechosas	-	-
2	<i>L. limellum</i>	0.53	16.33	Colonia cremosa	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Sin resultados
3	<i>L. limellum</i>	0.67	20.01	No se observan colonias sospechosas	-	-
4	<i>L. limellum</i>	0.76	19.51	No se observan colonias sospechosas	-	-
5	<i>L. limellum</i>	0.52	16.67	Colonia blanca	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	<i>Enterobacter cloacae</i> complex
6	<i>L. limellum</i>	0.61	16.02	Colonia amarilla	<i>Serratia liquefaciens</i>	<i>Enterobacter cloacae</i> complex
7	<i>L. limellum</i>	0.51	16.25	No se observan colonias sospechosas	-	-
8	<i>L. limellum</i>	0.58	18.58	Colonia blanca	<i>Aeromana hydrophila/punctata</i> (caviae)	<i>Citrobacter freundii</i>
9	<i>L. limellum</i>	0.67	17.67	Colonia amarilla y colonia cremosa	<i>Aeromana hydrophila/punctata</i> (caviae)	Sin resultados
10	<i>L. limellum</i>	0.51	16.93	No se observan colonias sospechosas	-	-
11	<i>Boana punctata</i>	2.24	31.58	No se observan colonias sospechosas	-	-
12	<i>B. punctata</i>	1.66	26.13	Colonia amarilla	Sin resultados	<i>Enterobacter cloacae</i> complex
13	<i>B. punctata</i>	1.8	30.79	Colonia amarilla	<i>Serratia fonticola</i>	Sin resultados
14	<i>B. punctata</i>	2.02	28.91	No se observan colonias sospechosas	-	-
15	<i>B. punctata</i>	1.99	29.31	No se observan colonias sospechosas	-	-
16	<i>B. punctata</i>	1.59	26.46	Colonia cremosa	<i>Vibrio vulnificus</i>	Sin resultados
17	<i>B. punctata</i>	2.01	31.02	No se observan colonias sospechosas	-	-
18	<i>B. punctata</i>	2.27	30.52	Colonia pequeña	Sin resultados	<i>Enterobacter cloacae</i>

**Table 1 (Continuation).** Results of microbiological tests for detection of bacteria and measurements taken.**Tabla 1 (Continuación).** Resultados de las pruebas microbiológicas para detección de bacterias y medidas tomadas.

No. de muestra	Especie	Peso (gr)	Longitud hocico-cloaca (cm)	Resultado para colonia bacteriana	Resultado VITEK®	Resultado Enterosystem
19	<i>B. punctata</i>	2.21	29.83	No se observan colonias sospechosas	-	-
20	<i>Boana punctata</i>	1.59	29.51	No se observan colonias sospechosas	-	-
21	<i>Leptodactylus luctator</i>	29	56.15	No se observan colonias sospechosas	-	-
22	<i>L. luctator</i>	59	89.44	No se observan colonias sospechosas	-	-
23	<i>Leptodactylus podicipinus</i>	6	41.42	No se observan colonias sospechosas	-	-
24	<i>Dendropsophus nanus</i>	0.38	17.46	No se observan colonias sospechosas	-	-
25	<i>D. nanus</i>	0.22	15.65	No se observan colonias sospechosas	-	-
26	<i>Lysapsus limellum</i>	0.8	17.52	No se observan colonias sospechosas	-	-
27	<i>L. limellum</i>	0.5	6.93	Colonia cremosa	<i>Ochrobactrum antropi</i>	Sin resultados
28	<i>L. limellum</i>	0.6	17.35	No se observan colonias sospechosas	-	-
29	<i>L. limellum</i>	0.6	17.25	No se observan colonias sospechosas	-	-
30	<i>L. limellum</i>	0.6	17.24	Colonia amarilla	Sin resultados-	<i>Citrobacter freundii</i>
31	<i>L. limellum</i>	0.6	17.28	No se observan colonias sospechosas	-	-
32	<i>L. limellum</i>	0.2	10.96	No se observan colonias sospechosas	-	-
33	<i>Pseudopaludicola boliviana</i>	0.5	16.22	Colonia amarilla	<i>Vibrio vulnificus</i>	Sin resultados
34	<i>P. boliviana</i>	0.2	13.33	Colonia amarilla y colonia cremosa	<i>Aeromana hydrophila/punctata (caviae)</i>	Sin resultados
35	<i>P. boliviana</i>	0.7	19.15	No se observan colonias sospechosas	-	-
36	<i>P. boliviana</i>	0.3	68.76	No se observan colonias sospechosas	-	-
37	<i>Boana raniceps</i>	4	68.76	No se observan colonias sospechosas	-	-
38	<i>B. punctata</i>	1.6	31.52	No se observan colonias sospechosas	-	-
39	<i>D. nanus</i>	0.1	12.17	No se observan colonias sospechosas	-	-
40	<i>L. luctator</i>	60	103.48	No se observan colonias sospechosas	-	-



**Figure 4.** Cultivation of colonies on MacConkey Agar and TSA.

**Figura 4.** Cultivo de colonias en Agar MacConkey y TSA.

cloacae complex, dos con *Citrobacter freundii*, dos *Vibrio vulnificus*, las demás especies se presentaron en solo una placa: *Ochractrum antropi*, *Serratia fonticola*, *S. liquefaciens* y *Klebsiella oxytoca*, presentándose un total de ocho especies distintas de bacterias (Tabla 1).

## DISCUSIÓN

Como ya se mencionó anteriormente las características de la piel de los anfibios proporciona un medio de cultivo ideal para la proliferación de bacterias, tanto beneficiosas como patógenas. Martin et al. (2019) reportan que existe una mayor tendencia en la presencia de las bacterias Gram negativas que las bacterias Gram positivas. Muchos microorganismos patógenos han sido aislados de anfibios y reptiles en cautiverio, por citar algunas: *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, *Providencia rettgeri*, *Morganella morganii*, *Salmonella arizonae* y *Klebsiella oxytoca*, los que, según el estado del huésped y el ambiente, pueden desarrollar las distintas patologías o servir de sinergia para otros agentes invasores (Kiesecker & Blaustein, 1995; Bosch, 2003; Lauer et al., 2008).

Del total de las especies de bacterias identificadas en este estudio, todas han sido citadas al menos alguna vez en reportes de flora microbiana en piel de anfibios, en mayor proporción tenemos a *Aeromana hydrophila/punctata* (caviae) y *Citrobacter freundii*, las que fueron dominantes en este estudio, y aunque *Enterobacter cloacae* se ha informado en las entrañas de las ranas (Chang et al., 2016), también su presencia se reportó en piel de sapos del género *Bombina* y en las ranas del género *Eleutherodactylus* (Bataille et al., 2016; Hughey et al., 2017). Las enterobacterias se pueden encontrar en diversos ambientes (suelo, agua, tracto digestivo de animales), por lo que las ranas podrían entrar en contacto con ellas desde los desagües y cuerpos de agua (Neave et al., 2014) o a través de los invertebrados que han consumido (Chang et al., 2016). La bacteria *Aeromonas hydrophila* es un microbio anaerobio gramnegativo que puede vivir en ambientes variados, tanto de agua dulce como salobre con un gran rango de temperatura de 4 a 37 °C (Hazen et al., 1978). Este microorganismo ha sido identificado en todos los continentes y resulta virulento para múltiples clases de vertebrados, incluidos los anfibios (Marquez et al., 1995), causa enfermedad denominada “pata roja” y ha estado implicado en la muerte de anuros (Emerson & Norris 1905). La enfermedad se caracteriza

por la presencia de eritema cutáneo con otros signos clínicos que incluyen anorexia, edema, úlceras, descamación o necrosis (Densmore & Green, 2007), pero ninguno de estos síntomas fue observado en las ranas de este estudio. Se cree que *A. hydrophila* contribuye o incluso causa algunos eventos de mortalidad de anfibios atribuidos a *B. dendrobatidis* y se ha sugerido que es parte de la flora normal de los anuros y puede estar presente en animales no enfermos (Miller et al. 2009). Por otro lado, Rivas (2016), no encontró relación entre *B. dendrobatidis* y *A. hydrophila*, y que la presencia de esta última se confirma post mortem.

Se han aislado varias especies bacterianas gramnegativas oportunistas, tales como *Aeromonas hydrophila*, *Chryseobacterium indologenes*, *C. meningosepticum*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Serratia liquefaciens*, en ranas enfermas de la especie *Xenopus laevis* (Schadich, 2009), varias de las cuales fueron reportadas en este estudio, como *Aeromonas hydrophila*, *Citrobacter freundii*, y *Serratia liquefaciens*. Estas especies bacterianas se pueden encontrar entre la microbiota de la piel y el intestino de ranas sanas, pero también se sabe que causan enfermedades (Hird et al., 1989; Pearson, 1998). El desarrollo de la enfermedad depende de la virulencia del organismo, factores ambientales, estrés, factores dietéticos, salud y estado inmunológico del animal (Olson et al., 1992; Hayes et al., 2006).

La bacteria *V. vulnificus*, un bacilo halófilo gramnegativo, se encuentra en el agua, sedimentos, plancton y mariscos como ostras, almejas y cangrejos. En los últimos años han aumentado los reportes de enfermedades necrosantes en seres humanos causadas por *V. vulnificus* (Huang et al., 2016). Sin embargo, no se han encontrado reportes de esta bacteria en ranas vivas en cautividad o en estado silvestres, por lo que este trabajo podría evidenciar la presencia de esta en piel de anfibios silvestres, y alertar de la importancia del estudio de este patógeno en anfibios, considerando el potencial zoonótico que pueden presentar.

Otro reporte importante es la presencia de *Ochrobactrum anthropi*, en una de las muestras procesadas, no se conoce mucho sobre este organismo y su potencial patógeno en anfibios, pero se sabe que *Ochrobactrum* spp. son organismos ambientales y se consideran patógenos oportunistas de baja virulencia en humanos (Wisplinghoff, 2017). Mientras que Eisenberg et al. (2012) sugieren que *Ochrobactrum anthropi*, muestra un 100 % de identidad con *Brucella inopinata* evidenciado por la secuencia del ARNr 16S.

## CONCLUSIONES

Este trabajo demuestra la importancia del monitoreo sanitario de las especies silvestres, de tal forma a tener un paneo de la situación actual de poblaciones. Se presenta el primer reporte de *Aeromonas hydrophila*, en anfibios para el Paraguay, otro reporte, es la presencia de *Vibrio vulnificus* en anfibios, éste podría considerarse el primer reporte de la presencia de esta bacteria en una comunidad de anfibios silvestres.

El equipo automatizado VITEK® ha demostrado ser una buena herramienta para complementar la identificación de la comunidad de bacterias en la piel de anfibios, el cual puede ser enriquecido aun más si se incluyen otros metodos complementarios como las pruebas bioquimicos.

**Agradecimientos.**— Especial agradecimiento al Servicio Nacional de Calidad y Salud Animal, al Presidente y los respectivos directores que consedieron el permiso de realizacion del ensayo en las instalaciones de la Direccion General de Laboratorios, Direccion de Diagnostico y Control de Productos Veterinarios, al Ministerio del Ambiente y Desarrollo Sostenible por el permiso de colecta de muestras otorgado y a la Lic. Yanine Maubet y la MSc. Karina Nuñez y a todas las personas que hicieron posible la realización de esta investigación, tanto en la colecta como en la realización de los respectivos análisis.

## LITERATURA CITADA

- Bataille, A., L. Lee-Cruz, B. Tripathi, H. Kim & B. Waldman. 2016. Microbiome variation across amphibian skin regions: implications for chytridiomycosis mitigation efforts. *Microbial Ecology* 71:221-232.
- Bosch, J. 2003. Nuevas amenazas para los anfibios: enfermedades emergentes. *Munibe* 51:56-73.
- Chang, C.W., B.H. Huang, S.M. Lin, C.L. Huang & P.C. Liao. 2016. Changes of diet and dominant intestinal microbes in farmland frogs. *BMC microbiology* 16:33.
- Densmore, C.L. & D.E. Green. 2007. Diseases of Amphibians. *ILAR Journal* 48:235-254.
- Díaz Páez, H. & J.C. Ortiz. 2003. Evaluación del Estado de Conservación de los Anfibios de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 76:509-525.



- Eisenberg, T., H.P. Hamann, U. Kaim, K. Schlez, H. Seeger, N. Schauerte, F. Melzer, H. Tomaso, H.C. Scholz, M. Koylass, A.M. Whatmore & M. Zschöck. 2012. Isolation of potentially novel *Brucella* spp. from frogs. *Applied and environmental microbiology* 78: 3753-3755.
- Emerson, H. & C. Norris. 1905. Red-Leg--An Infectious Disease of Frogs. *Journal of Experimental Medicine* 7.1:32-58.
- Flechas S. V., C. Sarmiento, M.E. Cárdenas, E.M. Medina, S. Restrepo & A. Amézquita A. 2012. Surviving chytridiomycosis: differential anti-*Batrachochytrium dendrobatidis* activity in bacterial isolates from three lowland species of *Atelopus*. *PLoS ONE* 7:e44832.
- Frost, D. 2023. Amphibian Species of the World: An Online Reference. <https://amphibiansoftheworld.amnh.org> [Consultado en noviembre 2023]
- Hayes T.B., P. Case, S. Chui D. Chung C. Haeffele, K. Haston, M. Lee, V.P. Mai, Y. Marjua, J. Parker & M. Tsui. 2006. Pesticide mixtures, endocrine disruption, and amphibian declines: are we underestimating the impact? *Environ Health Perspect* 114:40-50.
- Hazen, T., C. Flierman, R. Hirsch, & G. Esch. 1978. Prevalence and Distribution of *Aeromonas hydrophila* in the United States." *Applied and Environmental Microbiology* 36.5: 731-38.
- Hird D.W., S.L. Diesch, R.G. McKinnell, E. Gorham, F.B. Martin, S.W. Kurtz & C. Dubrovoly. 1981. *Aeromonas hydrophila* in wild-caught frogs and tadpoles (*Rana pipiens*) in Minnesota. *Laboratory Animal Science* 31:166-169.
- Huang, K.C., H.H. Weng, T.Y. Yang, T.S. Chang, T.W. Huang & M.S. Lee. 2016. Distribution of Fatal *Vibrio vulnificus* Necrotizing Skin and Soft-Tissue Infections: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Medicine* 95:e2627.
- Hughey, M.C., J.A. Pena, R. Reyes, D. Medina, L.K. Belden & P.A. Burrowes. 2017. Skin bacterial microbiome of a generalist Puerto Rican frog varies along elevation and land use gradients. *PeerJ* 5: e3688.
- Johnson, A. & J. Wellehan. 2005. Amphibian virology. *Veterinary Clin. Exot of Northamerica. Exotic Animal Practice* 8:53-65.
- Jordá Vargas L., A. Vila, A. Lanza, P. Bonvehi, J. Nazar, A. Mikietuk, R. Labat & J. Smayevsky. 2005. Utilidad del sistema VITEK en la identificación bacteriana y estudios de sensibilidad antimicrobiana. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* 39:19-25.
- Kiesecker, J.M. & A.R. Blaustein. 1995. Synergism between UV-B radiation and a pathogen magnifies amphibian mortality in nature. *Proceedings of the National Academy of Science* 92:11049-11052.
- Lauer A, M.A. Simon, J.L. Banning, E. André, K. Duncan & R.N. Harris R.N. 2007. Common cutaneous bacteria from the eastern red-backed salamander can inhibit pathogenic fungi. *Copeia* 2007: 630-640.
- Marquez, R., J. Olmo & J. Bosch. 1995. Recurrent mass mortality of larval midwife toads *Alytes obstetricans* in a lake in the Pyrenean Mountains. *Herpetological Journal* 5:287-289.
- Martin H.C., R. Ibáñez & L.F. Nothias. 2019. Viscosin-like lipopeptides from frog skin bacteria inhibit *Aspergillus fumigatus* and *Batrachochytrium dendrobatidis* detected by imaging mass spectrometry and molecular networking. *Science Reports* 9:3019.
- Mereles F.M., J. De Egea, G. Elsam, M.C. Céspedes, R. Peña-Chocarro & D. Arrúa. 2015. Plantas acuáticas y palustres del Paraguay. *Rojasiana (San Lorenzo)* 2: 236.
- Miller, D. L., M.J. Gray, S. Rajeev, A.C. Schmutzer, E.C. Burton, A. Merrill & C.A. Baldwin. 2009. Pathologic findings in larval and juvenile anurans inhabiting farm ponds In Tennessee, USA. *Journal of Wildlife Diseases* 45.2: 314-24.
- Neave, M., H. Luter, A. Padovan, S. Townsend, X. Schobben & K. Gibb. 2014. Multiple approaches to microbial source tracking in tropical northern Australia. *MicrobiologyOpen* 3:860-874.
- OIE. 2020. Infección por *Batrachochytrium dendrobatidis*. Capítulo 2.1.1. PP 1-23. En *Manual de pruebas de diagnóstico para los animales acuáticos*. Paris. Francia.
- Olson M.E., S. Gard, M. Brown, R. Hampton & D.W. Morck. 1992. *Flavobacterium indologenes* infection in leopard frogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 201: 1766-1770.
- Pearson MD. 1998. Motile *Aeromonas* septicaemia of farmed *Rana* spp. PhD. Thesis. University of Stirling. Stirling, UK.
- Pereyra, L., E. Etchepare & M. Vaira. 2021. *Manual de Técnicas y Protocolos para el Relevamiento y Estudio de Anfibios de Argentina*. EdiUnju, San Salvador de Jujuy, Jujuy, Argentina.



- Ramirez-Castro, M.A. 2010. Detección de *Batrachochytrium dendrobatidis* por medio de técnicas moleculares y microbiológicas en ensamblajes de anfibios en las localidades de Santa María (Boyacá), Samaná (Caldas) y Guanentá (Boyacá). Tesis de licenciatura. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Rivas, Z. P. 2016. *Aeromonas hydrophila* In Amphibians: Harmless Bystander or Opportunistic Pathogen. B.S. Thesis. University of Central Florida, Florida, USA.
- Schadich E. 2009. Skin peptide activities against opportunistic bacterial pathogens of the African clawed frog (*Xenopus laevis*) and three Litoria frogs. *Journal of Herpetology* 43:173-183.
- Simons R.R., R.G. Jaeger & B.E. Felgenhaur. 1997. Competitor assessment and area defense by territorial salamanders. *Copeia* 1997:70-76.
- Webb R. 2010. Culture Methods for Bd. <https://arwh.org/wp-content/uploads/2021/03/Attachment-2-Culture-Methods-for-Bd.pdf> [Consultado en marzo 2023]
- Weiler, A., K. Nuñez, K., K. M. Airaldi Wood, E. O., Lavilla, S. J. Peris Alvarez, & J. D. Baldo, 2013. Anfibios del Paraguay. Universidad Nacional de Asunción; Universidad de Salamanca. Asunción, Paraguay.
- Wisplinghoff, H. & H Seifert. 2017. *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. and Miscellaneous Gram-Negative Bacilli. Pp 181, 1579-1599.e2. Editor(s): Jonathan Cohen, Steven M. Opal, William G. Powderly, *Infectious Diseases* (Third Edition), Cologne, Alemania.
- Woodhams, D.C., V.T. Vredenburg, M.A. Simon, D. Billheimer, B. Shakhtour & Y. Shyr. 2007. Symbiotic bacteria contribute to innate immune defenses of the threatened mountain yellow-legged frog, *Rana muscosa*. *Biological Conservation* 138:390-398.



PRIMER REGISTRO DE *MICRUROIDES EURYXANTHUS NEGLECTUS* (SERPENTES: ELAPIDAE) PARA EL ESTADO DE ZACATECASFIRST RECORD OF *MICRUROIDES EURYXANTHUS NEGLECTUS* (SERPENTES: ELAPIDAE) FOR THE STATE OF ZACATECAS

Michael Rolando Gómez-Gallegos<sup>1</sup>, Leonardo Isaac Solís-De Ávila<sup>1</sup>, Heysa Aracely Sigala-Valdéz<sup>1</sup>, Utilio Soto-Bermúdez<sup>2</sup> & Paulino Ponce-Campos<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>*Ekhidna & Typhoon, A.C., Avenida Insurgentes #133 Colonia Centro, Zacatecas, Zacatecas.*

<sup>2</sup>*Monte Escobedo, Zacatecas.*

<sup>3</sup>*Bosque Tropical, Investigación para la conservación de la Naturaleza A.C., Zapopan, Jalisco.*

\*Correspondencia: [poncecp@hotmail.com](mailto:poncecp@hotmail.com)

**Received:** 2024-06-12. **Accepted:** 2024-07-24. **Published:** 2024-08-30.

**Editor:** Oswaldo Hernández-Gallegos, México.

El género *Micruroides* (Elapidae) designado por Schmidth, 1928, es monoespecífico, con la especie llamada Coralillo de Sonora o Coralillo Occidental (Western Coral Snake) *Micruroides euryxanthus* (Kennicott, 1860) (Roze, 1967). La especie tiene una distribución desde suroeste de los Estados Unidos y por la cuenca del Pacífico mexicano, hasta el centro y norte del estado de Jalisco, de la cual se conocen tres subespecies: *Micruroides euryxanthus euryxanthus* (Kennicott, 1860) distribuida en el suroeste de los Estados Unidos, noroeste de Chihuahua y norte de Sonora; *Micruroides euryxanthus australis* Zweifel y Norris, 1955 desde el centro-norte de Sonora, suroeste de Chihuahua, norte y centro de Sinaloa; *Micruroides euryxanthus neglectus* Roze, 1967 con distribución desde el centro de Sinaloa hasta Nayarit, y por las cuencas del río Santiago, Huaynamota y Bolaños en Nayarit y norte de Jalisco, hasta el Centro Jalisco en la cuenca del río Ameca (Ahumada-Carrillo et al., 2018; Campbell y Lamar, 2004; Dávalos-Martínez et al., 2019; Loc-Barragán, et al., 2024; Roze, 1974, Uriarte-Garzón et al., 2020). Es importante mencionar que según Uriarte-Garzón et al. (2020), en el centro de Sinaloa, existe una posible zona de intergradación de las dos últimas subespecies.

*Micruroides euryxanthus* se distingue de los coralillos del género *Micrurus* spp. por presentar un capuchón negro en la parte anterior de la cabeza, seguido por un anillo transversal claro (crema), y posterior a esta banda clara se encuentra una banda roja; a diferencia de los coralillos monadales (especies con anillos de tres colores: rojo, claro y negro) del género *Micrurus*, en las que posterior a la banda clara se presenta un anillo o banda negra (Campbell & Lamar, 2004; Roze, 1974). Además, *M. euryxanthus* presenta sólo un par de escudos geniales y la cola termina semi-

truncada o ligeramente roma, a diferencia de *Micrurus* spp., que tiene dos pares de escudos geniales y la cola termina en punta y en caso de estar truncada, será por la pérdida de la punta o una parte de la cola (Campbell & Lamar, 2004; Roze, 1974).

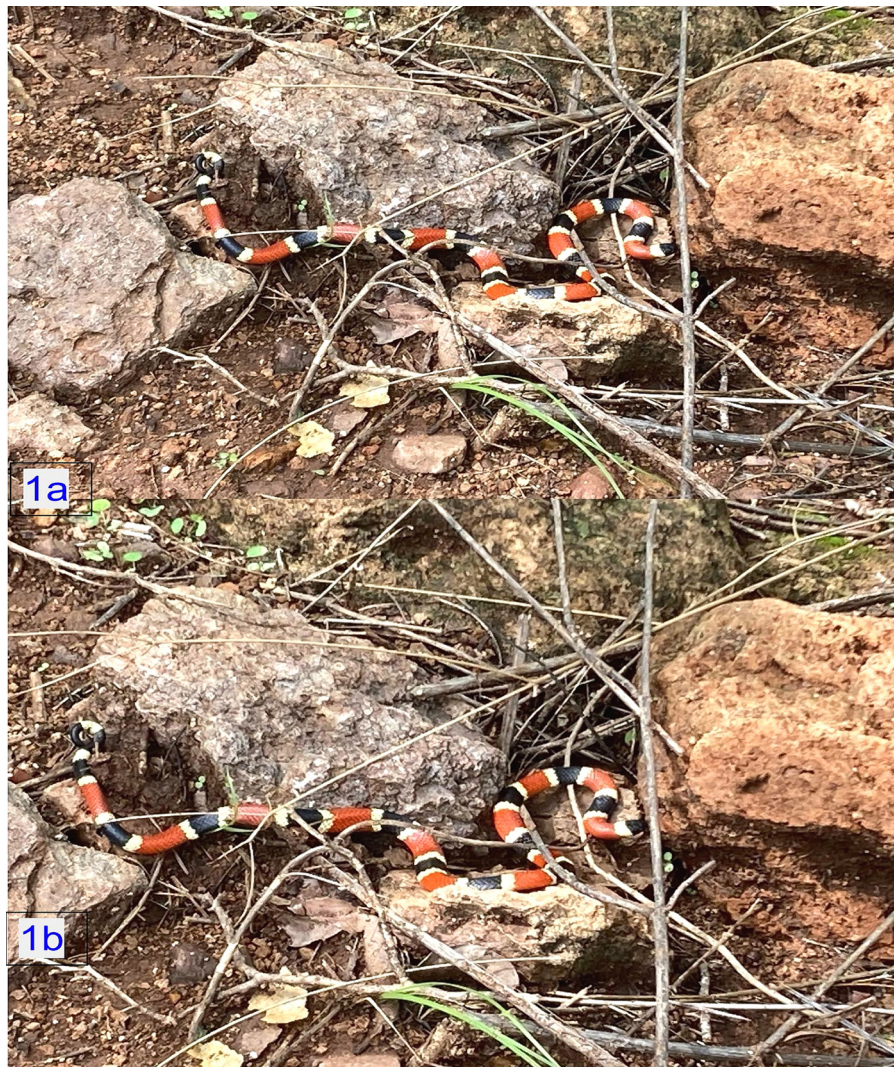
La serpiente Coral de Sinaloa (Sinaloa Coralsnake) *M. euryxanthus neglectus*, fue redescubierta por Meik et al. (2007) después de un hiato de cuarenta años desde el registro de dos ejemplares obtenidos en Sinaloa, con los que se describió la subespecie (Roze, 1974). Posterior a esto, se tuvieron dos registros más para Sinaloa (Uriarte-Garzón et al., 2020), tres registros para Jalisco (Ahumada-Carrillo et al., 2018; Dávalos-Martínez et al., 2019) y dos registros (sin localidad) para Nayarit (Loc-Barragán, et al., 2024). La subespecie *M. e. neglectus* se distingue de la subespecie más cercana *M. e. australis*, en que los machos presentan menos de 207 escamas ventrales, además de que los anillos claros son de 1.5 a 2 escamas dorsales de longitud, a diferencia de *M. e. australis* con un mínimo de 213 escamas ventrales y las bandas o anillos claros varían entre 2.5 y 5 escamas dorsales de longitud (Roze, 1974).

El nivel altitudinal de distribución de *M. e. neglectus* varía desde áreas con altitudes bajas, en zonas muy cercanas a la costa, mayores a los 100 m s.n.m. (según las coordenadas de Uriarte Garzón et al., 2020: holotipo y paratipo) hasta los 1,460 m s.n.m. en Jalisco (Ahumada-Carrillo et al., 2018). En los estados de Sinaloa y Nayarit la subespecie se distribuye debajo de los 600 m s.n.m. y en Jalisco el límite más bajo es el registrado por Cruz-Sáenz et al. (2008) cerca de Huaxtla, en Techaluta a 875 m s.n.m., que se localiza en el Municipio de San Cristóbal de la Barranca (confirmado por Jesús Cortés, com.

pers.). El registro previo para Techaluta de Montenegro, está referido en error por Ahumada-Carrillo et al. (2018) y Dávalos-Martínez et al. (2019) para el Municipio de San Cristóbal de la Barranca, ya que Techaluta de Montenegro es un Municipio diferente al Municipio de San Cristóbal de la Barranca. Los tipos de vegetación en los que se ha registrado a *Micruroides e. neglectus* son: ecotono de bosque tropical caducifolio y bosque de encino en Jalisco (Ahumada-Carrillo et al., 2018), bosque tropical caducifolio en Sinaloa (Meik et al., 2007), vegetación secundaria (Dávalos-Martínez et al., 2019) con reductos de bosque tropical caducifolio en la periferia cercana en Jalisco (Aldo Dávalos-Martínez, comunicación personal, 2024) y un registro en bosque tropical caducifolio (Meseta Cacaxtla) y otro en ecotono entre

selva mediana y bosque tropical caducifolio en Sinaloa (Reserva Ecológica el Mineral) (Pedro Uriarte-Garzón, comunicación personal, 2024).

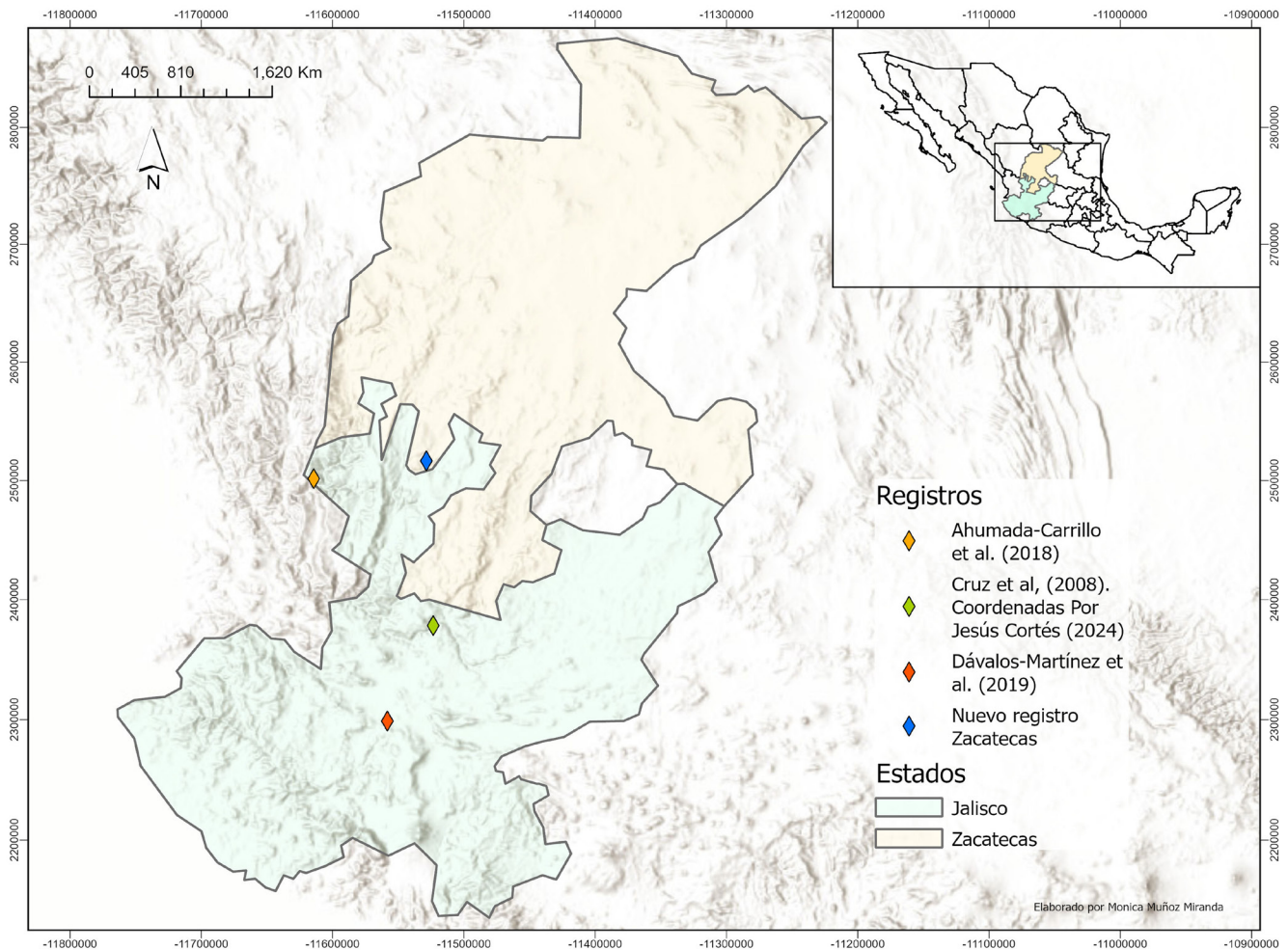
El ejemplar, que constituye el primer registro de distribución geográfica de *M. e. neglectus* para el estado de Zacatecas, fue localizado activo el día 20 de julio del 2020, aprox. a las 14:00 h, escondiéndose entre las piedras en una pendiente cerca del Río Mite, en el Municipio de Monte Escobedo, Zacatecas en la Cuenca del río Bolaños (coordenadas aproximadas en Google Earth Pro - Datum WGS 84: 22.175946° N, 103.563392° W; altitud aproximada de 1,514 m s.n.m.), aprox. 31 km al ONO de Colotlán, Jalisco (Figs. 1, 2, 3). El ejemplar fue observado por los tres primeros autores.



**Figure 1.** Specimen photographed *in situ*: *Micruroides euryxanthus neglectus*, Mite Canyon, Monte Escobedo, Zacatecas. Photographs: a - MZFC-HE-IMG193; b - MZFC-HE-IMG194. Photographer: Michael Rolando Gómez-Gallegos.

**Figura 1.** Ejemplar fotografiado *in situ*: *Micruroides euryxanthus neglectus*, Barranca Mite, Monte Escobedo, Zacatecas. Fotografías: a - MZFC-HE-IMG193; b MZFC-HE-IMG194. Fotógrafo: Michael Rolando Gómez-Gallegos.





**Figure 2.** New record location of *Micruroides euryxanthus neglectus* in Mite Canyon, Monte Escobedo, Zacatecas and Jalisco records. Figure: Mónica Muñoz Miranda

**Figura 2.** Localidad del nuevo registro de *Micruroides euryxanthus neglectus* en Barranca Mite, Monte Escobedo, Zacatecas y registros previos en Jalisco. Figura: Mónica Muñoz Miranda.

El primer autor tomó las fotografías del ejemplar *in situ* y no fue manipulado, la tercera autora tomó las fotos del hábitat. El hábitat es bosque tropical caducifolio deforestado, en zona de barrancas (Fig. 3a, b). Esta observación representa el registro de mayor altitud para la subespecie, superando por 54 m la mayor elevación previamente registrada por Ahumada-Carrillo et al. (2018). El registro más cercano de la subespecie está a aprox. 80 km al OSO en el Cañón Huaynamota, Sierra Los Huicholes, Municipio de Mezquitic, Jalisco (Ahumada-Carrillo et al., 2018). Registro fotográfico verificado por Oscar Flores Vilella. Las imágenes fueron depositadas en la colección fotográfica del Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias, UNAM (MZFC-HE-IMG193-4). El ejemplar fotografiado presenta 12 anillos

rojos, 24 anillos claros y 12 anillos negros en el cuerpo, dos anillos negros y dos anillos claros en la cola.

**Agradecimientos.**— Al Dr. Oscar Flores Vilella por verificar la identidad taxonómica de *Micruroides euryxanthus neglectus* mediante el registro fotográfico, además del apoyo para que las imágenes se depositaran y registraran en el Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias de la UNAM. A la Ing. en Conservación Mónica Muñoz Miranda, por su apoyo con la elaboración de mapa. A quién apoyó en la inclusión de las fotos en la colección de imágenes (MZFC-HE-IMG), a los revisores por sus valiosas aportaciones a la presente nota. A Pedro Uriarte y Aldo Dávalos por su apoyo.

## LITERATURA CITADA

Ahumada-Carrillo, I.T., R.A. Carbajal-Márquez, M.A. López-Cuellar & G.N. Weatherman. 2018. The Sonoran Coralsnake, *Micruroides euryxanthus* (Kennicott, 1860), in the state of Jalisco, Mexico. *Mesoamerican Herpetology* 5:185-188.

Campbell, J.A. & W.W. Lamar. 2004. *The venomous reptiles of the western hemisphere*. Cornell Univ. Press, Ithaca, New York, USA.

Cruz-Sáenz, D., C.E. Gudiño-Larios, C.D. Jimeno-Sevilla, R. López-Velázquez & J. Cortés-Aguilar. 2008. *Guía de Reptiles y Anfibios de Arcediano*. Guadalajara, Jalisco, Comisión Estatal de Agua, Gobierno de Jalisco, Guadalajara, Jalisco México.

Dávalos-Martínez, A., D. Cruz-Sáenz, J.A. Najar-Sánchez & F.J. Muñoz-Nolasco. 2019. A new southern-most record of the Sonoran Coralsnake, *Micruroides euryxanthus* Kennicott, 1860, (Squamata: Elapidae) from the state of Jalisco, Mexico. *Herpetology Notes* 12:681-683.

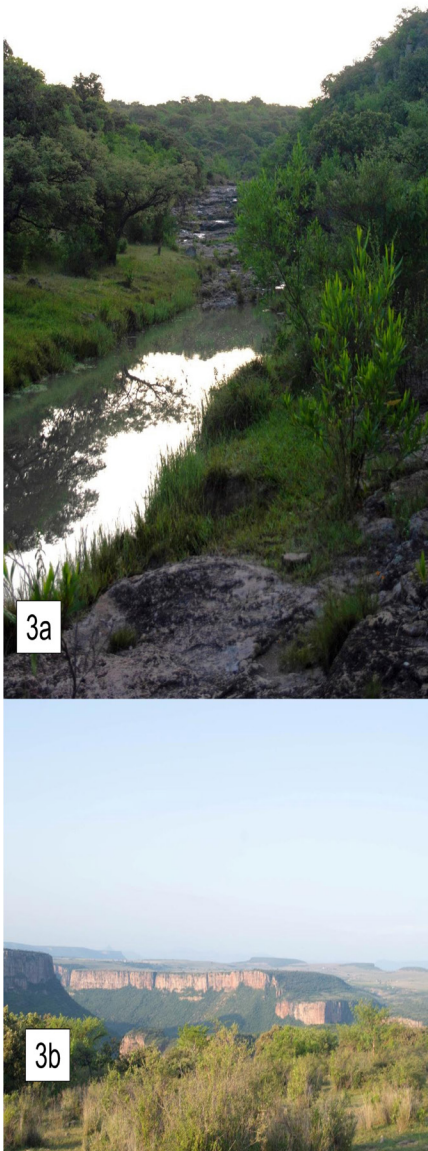
Loc-Barragán J.A., G.R. Smith, G.A. Woolrich-Piña & J.A. Lemos-Espinal. 2024. An updated checklist of the amphibians and reptiles of Nayarit, Mexico with conservation status and comparison with adjoining States. *Herpetozoa* 37:25-42.

Meik, J.M., E.N. Smith & A.A. Mendoza-Hernández. 2007. Rediscovery of the rare Coralsnake *Micruroides euryxanthus neglectus* (Serpentes: Elapidae). *Herpetological Review* 38:293-294.

Roze, J.A. 1967. A checklist of the New World venomous Coral Snakes (Elapidae), with descriptions of new forms. *American Museum Novitates* 2287:1-60.

Roze, J.A. 1974. *Micruroides, M. euryxanthus*. *Catalogue of American Amphibians and Reptiles* 163:1-4.

Uriarte-Garzón, P., A.E. Valdenegro-Brito, H. Bárcenas-Rodríguez & U.O. García-Vázquez. 2020. Nuevos registros de distribución de *Micruroides euryxanthus australis* y *Micruroides euryxanthus neglectus* (Serpentes: Elapidae), y su distribución potencial en Sinaloa, México. *Revista Latinoamericana de Herpetología*. 3:149-154.



**Figure 3.** A) Mite River and its habitat in the *Micruroides euryxanthus neglectus* registry area, Barranca Mite, Monte Escobedo, Zacatecas. B) Habitat in canyon area where *Micruroides euryxanthus neglectus* was recorded, Mite Canyon, Monte Escobedo, Zacatecas. Photos: Heysa Aracely Sigala-Valdez.

**Figura 3.** A) Río Mite y su hábitat en la zona del registro de *Micruroides euryxanthus neglectus*, Barranca Mite, Monte Escobedo, Zacatecas. B) Hábitat en las barrancas, en la zona del registro de *Micruroides euryxanthus neglectus*, Barranca Mite, Monte Escobedo, Zacatecas. Fotos: Heysa Aracely Sigala-Valdez.



# EVIDENCIA DE COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE TORTUGA VERDE DEL PACÍFICO ORIENTAL (*CHELONIA MYDAS*) EN EL PARQUE NACIONAL ARCHIPIÉLAGO DE REVILLAGIGEDO, MÉXICO

EVIDENCE OF REPRODUCTIVE BEHAVIOR IN EASTERN PACIFIC GREEN SEA TURTLES (*CHELONIA MYDAS*) IN THE ARCHIPELAGO OF REVILLAGIGEDO NATIONAL PARK, MEXICO

Fernando Iván Hernández-Burgos<sup>1,2</sup>, Helena Fernández-Sanz<sup>2,3,4</sup>, Laura Andrea Flores-Gasca<sup>2,3</sup> & Eduardo Reséndiz<sup>2,4,5</sup> \*

<sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Av. Universidad 3000, C.P 04510, Coyoacán, Ciudad de México, México.

<sup>2</sup>Health assessments in sea turtles from Baja California Sur, C.P. 23085, La Paz, B.C.S., México.

<sup>3</sup>Departamento Académico de Ciencias Marinas y Costeras, Universidad Autónoma de Baja California Sur (UABCS). Carretera al Sur KM 5.5., Apartado Postal 19-B, C.P. 23080, La Paz B.C.S. México.

<sup>4</sup>Honu Kai A.C., Santa Fe 170, C.P. 01376, Álvaro Obregón, Ciudad de México, México.

<sup>5</sup>Laboratorio de Investigación y Medicina de Organismos Acuáticos, Departamento Académico de Ciencia Animal y Conservación del Hábitat, Universidad Autónoma de Baja California Sur, Unidad Académica Pichilingue, Carretera La Paz-Pichilingue km. 16.5 La Paz Baja California Sur, México.

\*Correspondence: [jeresendiz77@gmail.com](mailto:jeresendiz77@gmail.com)

Received: 2024-07-18. Accepted: 2024-07-30. Published: 2024-09-06.

Editor: Rodrigo Macip Ríos, México.

**Abstract.**— The Eastern Pacific green sea turtle (*Chelonia mydas*), locally known as the black turtle, is listed as endangered. Through the monitoring and research of sea turtles in the Revillagigedo Archipelago for the development of the baseline information about nesting and health assessment of black turtles in the region, the first photographic records of mating behavior were obtained in Sulfur Bay on Clarion Island and in Vargas Lozano Bay on Socorro Island during the peak nesting season, indicating an extended reproductive season.

**Keywords.**— Black turtle, Clarion Island, coupling, mating, Socorro Island.

**Resumen.**— La tortuga verde del Pacífico Oriental (*Chelonia mydas*), localmente conocida como tortuga prieta o negra, es una especie catalogada en peligro de extinción. A través de los monitoreos e investigación de tortugas marinas en el Archipiélago de Revillagigedo para la elaboración de la línea base de información sobre la anidación y evaluación de salud de tortugas negras en la región, se obtuvieron los primeros registros fotográficos de cópula en Bahía Azufre en Isla Clarión y en Bahía Vargas Lozano en Isla Socorro, durante la temporada pico de anidación, lo que indica una temporada reproductiva extendida.

**Palabras Clave.**— Cópula, Isla Clarión, Isla Socorro, mancuerna, tortuga negra.

En México se distribuyen seis de las siete tortugas marinas existentes a nivel mundial (Aguirre-Muñoz et al., 2015). Particularmente, el Archipiélago de Revillagigedo es una zona prístina de refugio, alimentación y anidación ocasional o permanente de cuatro de ellas (Argueta-Valadez, 1994). Esta región es especialmente importante, ya que, es considerada una de las tres principales zonas de reproducción para la tortuga verde del Pacífico Oriental (*Chelonia mydas*), localmente

conocida como tortuga prieta o negra (Blanco et al., 2012). Esta población de tortugas tiene sitios de anidación restringidos al Pacífico Oriental y es considerada una unidad de manejo independiente al poseer características biológicas, morfológicas y de comportamiento particulares (Álvarez-Varas et al., 2021). Dentro del comportamiento reproductivo, al alcanzar la madurez sexual, las tortugas marinas migran desde zonas de alimentación a zonas de anidación ubicadas en regiones

tropicales o subtropicales a las cuales tienen una alta filopatría, con migraciones que cruzan barreras internacionales (Dutton et al., 2019), con intervalos de remigración reproductiva superiores a los dos años (Miller, 1996); donde hembras y machos llevan a cabo comportamientos de cortejo y apareamiento en zonas cercanas a las playas de anidación (Bevan et al., 2016). Se tienen pocos registros del comportamiento de cópula; sin embargo, se describe como un evento frecuentemente agresivo que genera lesiones en los organismos. Donde previamente los machos persiguen y compiten por las hembras, rodeándolas, realizando acercamientos cloacales, frotamientos gulares, mordidas, intentos de monta e interferencias de monta. Esto hasta lograr la cópula que puede durar varias horas (Booth & Peters, 1972; Bevan et al., 2016; Kawazu et al., 2017).

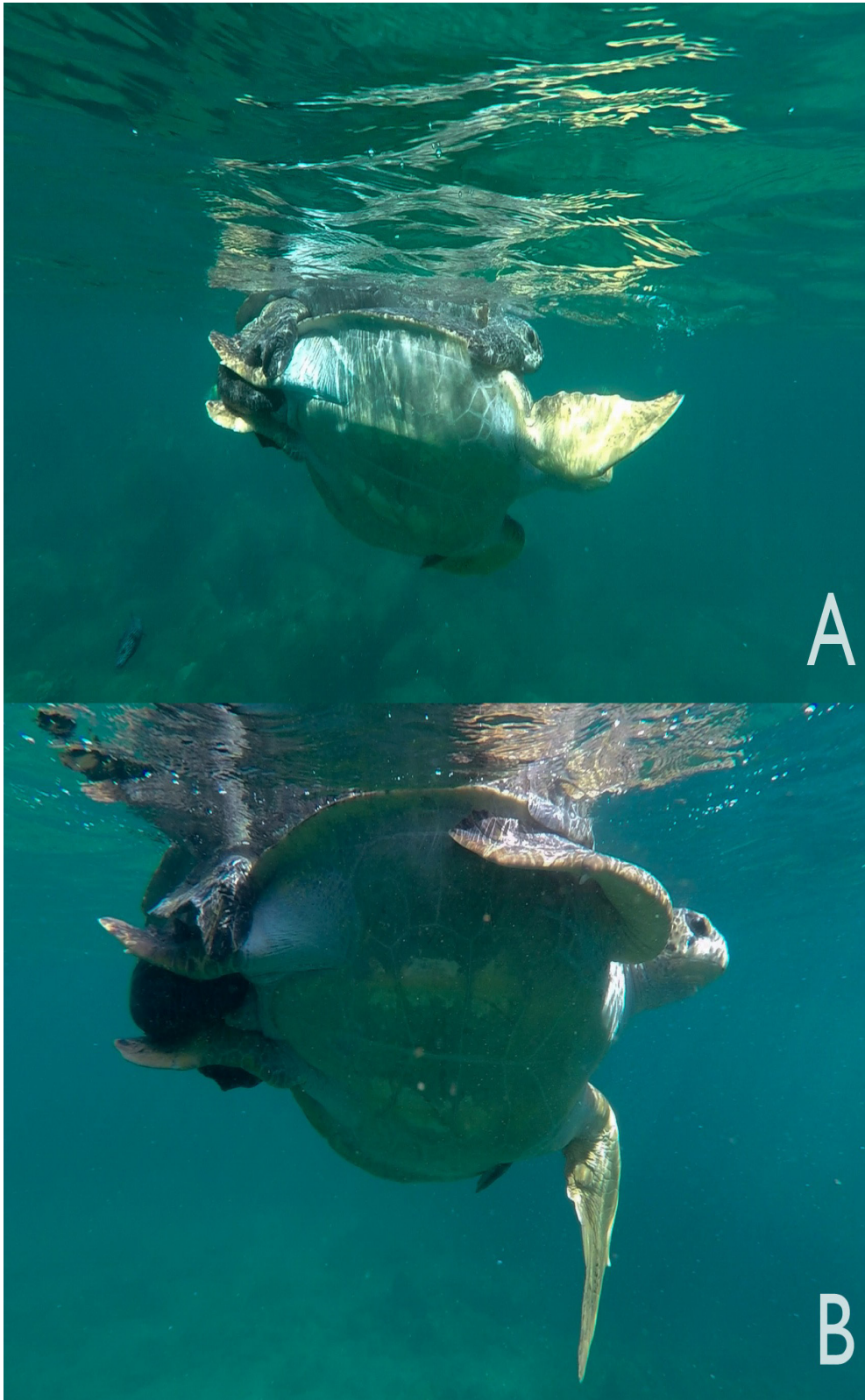
Durante los meses de octubre y noviembre (pico de anidación) de 2022 y 2023 se llevaron a cabo monitoreos de tortugas marinas en las islas Clarión y Socorro (noviembre de 2023), para la elaboración de la línea base de información sobre la anidación de tortugas verdes del Pacífico Oriental en el

archipiélago (Tiscareño et al., 2022, 2023). En estas temporadas, incluyendo el mes de diciembre se registró el comportamiento reproductivo de la especie en ambas islas. En este documento se presenta el primer registro fotográfico de cópula entre tortugas verdes del Pacífico Oriental en el archipiélago. El día 9 de octubre de 2023 a las 17:47 h en Bahía Azufre, Isla Clarión, observando desde Playa Grande (playa de mayor actividad de anidación). El macho se encontró sujetándose con las uñas de las aletas anteriores a los escudos marginales del caparazón de la hembra. La hembra presentó una lesión en el cuello de aproximadamente 3-4 cm completamente cicatrizada, sugerente de actividad reproductiva pasada (Fig. 1). Inicialmente los organismos se localizaban copulando en la superficie del mar. Transcurrida una hora, las tortugas aún acopladas, se alejaron por el movimiento de las corrientes y el nado de la hembra. Se estimó que el evento de cópula tuvo una duración superior al tiempo de observación. El día 10 de diciembre de 2023 a las 16:35 h se fotografió otra pareja de tortugas verdes del Pacífico Oriental en Bahía Vargas Lozano, Isla Socorro (Figura 2a). La evidencia fotográfica se registró a través de una cámara acuática (GoPro Hero 4 Silver®).



**Figure 1.** Mating behavior of Eastern Pacific green sea turtles (*Chelonia mydas*) in Sulfur Bay, Clarión Island, in the Revillagigedo National Park. October 2023. Photo: Fernando Iván Hernández Burgos.

**Figura 1.** Cópula de tortuga verde del Pacífico Oriental (*Chelonia mydas*) en Bahía Azufre, Isla Clarión, en el Parque Nacional Revillagigedo. Octubre de 2023. Foto: Fernando Iván Hernández Burgos.



**Figure 2.** Mating behavior of Eastern Pacific green sea turtles (*Chelonia mydas*) in Vargas Lozano Bay, Socorro Island, in the Revillagigedo National Park (A), and approach of the male holding onto the female with the penis inserted into the female's cloaca and the female extending the posterior fins anchored to the male's tail (B). December 2023. Photo: Fernando Iván Hernández Burgos.

**Figura 2.** Cópula de tortuga verde del Pacífico Oriental (*Chelonia mydas*) en Bahía Vargas Lozano, Isla Socorro, en el Parque Nacional Revillagigedo (A), y acercamiento del macho sujetándose a la hembra con el pene introducido en la cloaca de la hembra y la hembra extendiendo las aletas posteriores ancladas a la cola del macho (B). Diciembre de 2023. Foto: Fernando Iván Hernández Burgos.

Se observó al macho sujetándose de los escudos marginales del caparazón de la hembra, también se apreció que el pene estaba introducido en la cloaca de la hembra, mientras que la hembra presentó las aletas posteriores extendidas y ancladas a la cola del macho (Figura 2b). Ambas tortugas permanecieron en esta posición aproximadamente 30 min. Posteriormente, la hembra se desplazó con el macho aún sujetado a ella, permaneciendo unidos en el fondo del mar a una profundidad aproximada de 18 m, donde ya no se logró registrar su actividad. Desde la observación inicial, el evento tuvo una duración aproximada de 1 h 20 min, lo cual sugiere que el proceso completo de cópula tuvo una mayor duración.

A lo largo de las últimas décadas, diversos autores han documentado el comportamiento de cortejo y cópula de tortugas verdes del Pacífico Oriental en Isla Clarión e Isla Socorro. Brattstrom (1982) reportó la cópula en los meses de mayo y noviembre, Awbrey (1984) documentó varias parejas de tortugas copulando en Bahía Azufre en Isla Clarión en el mes de octubre, mientras que Argueta-Valadez (1994) registró el apareamiento de tortugas durante los meses de noviembre y marzo en Bahía Vargas Lozano, cerca de Cabo Henslow y en Playa Blanca de Isla Socorro. Confirmamos de esta forma los registros antes mencionados del comportamiento de cópula en el mes de octubre y se registra por primera vez en diciembre. La lesión completamente cicatrizada en el cuello de la hembra (Figura 1) proporciona un indicativo de que el apareamiento sucedió durante la temporada previa a la anidación, mostrando a través de estos registros una temporada reproductiva extendida, ya que, la cópula se lleva a cabo aproximadamente de uno a dos meses antes del proceso de anidación (Miller, 1996). Los tiempos de cópula que se presentan fueron superiores a 1 h similar a lo documentado por Argueta-Valadez (1994) en las islas, los cuales fueron de 1 h 30 min.

Por primera vez se presentan registros fotográficos de eventos de cópula en el Archipiélago de Revillagigedo, que amplían la información anteriormente registrada en la zona, demostrando que existe una temporada reproductiva extendida, y que sugiere que la anidación de la especie en ambas islas ocurre durante todo el año, con un pico de actividad en octubre y noviembre (Fernández-Sanz et al., 2024). Toda la información generada de esta población en las islas es de importancia, ya que, constituyen un hábitat crítico de reproducción y actúan como fuente y receptor de biodiversidad, proporcionando un mecanismo de mayor divergencia genética (Juarez-Cerón, 2003; Holroyd & Tefry, 2010; Dutton, et al., 2014).

**Agradecimientos.**— Gracias a las autoridades del Parque Nacional Revillagigedo, Josué Melesio Tiscareño Villorin y Luz

Eréndida Frías Hernández, y a los guardaparques Nathaniel Rivera Reyes, Daniel Israel Vázquez Arce, Carlos Paul Vargas Cossio, Osvaldo Hernández González y Penélope Berúmen Solorzano del Parque Nacional Revillagigedo de la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (PNR-CONANP) por su apoyo para la realización de ese trabajo. Gracias a la Secretaría de Marina (SEMAR) por el traslado a las islas y su apoyo durante la estancia en el Parque. Finalmente, gracias a los integrantes del equipo de Health Assessments in Sea Turtles From Baja California Sur (HAST-BCS) por el trabajo de campo realizado para la obtención de los datos en conjunto y los registros fotográficos. Este trabajo fue financiado por el proyecto: Condición de las tortugas marinas anidadoras en el Parque Nacional Revillagigedo (UABCS: INV-EX/451) y Honu Kai A.C. No realizamos manipulación ni colecta de las especies.

## LITERATURA CITADA

- Aguirre-Muñoz, A., F. Méndez-Sánchez, A. Ortiz-Alcaras, A. Del Mazo-Maza, L. Fueyo-Mac, L. Donald, A. Espinoza & S.A. García. 2015. Formulario de nominación del bien natural "Archipiélago de Revillagigedo" para su inscripción en la Lista del Patrimonio Mundial, presentado al Centro de Patrimonio Mundial de la UNESCO. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Comisión Nacional de Áreas Naturales protegidas y Grupo de Ecología y Conservación de Islas, A.C. Ensenada, Baja California, México.
- Argueta-Valadez, T. 1994. Importancia del Archipiélago Revillagigedo, Colima como zona de alimentación, crecimiento y anidación de tortugas marinas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F., México.
- Álvarez-Varas, R., N. Rojas-Hernández, M. Heidemeyer, C. Riginos, H.A. Benítez, R. Araya-Donoso, E. Reséndiz, M. Lara-Uc, D.A. Godoy, J.P. Muñoz-Pérez, D.E. Alarcón-Ruales, J. Alfaro-Shigueto, C. Ortiz-Alvarez, J.C. Mangel, J.A. Vianna & D. Véliz. 2021. Green, yellow or black? Genetic differentiation and adaptation signatures in a highly migratory marine turtle. *Proceedings of the Royal Society B* 288:1-10.
- Awbrey, F.T., S. Leatherwood, E.D. Mitchell & W. Rogers. 1984. Nesting green sea turtles (*Chelonia mydas*) on Isla Clarión, Islas Revillagigedos, Mexico. *Bulletin of the Southern California Academy of Sciences* 83:69-75.
- Blanco, G.S., S.J. Morreale, J.A. Seminoff, F.V. Paladino, R. Piedra & J.R. Spotila. 2012. Movement and diving behavior of interesting

- green turtles along Pacific Costa Rica. *Integrative Zoology* 8:293-306.
- Booth, J. & J.A. Peters. 1972. Behavioral studies on the green turtle (*Chelonia mydas*) in the sea. *Animal Behavior* 20:808-812.
- Brattstrom, B.H. 1982. Breeding of the green sea turtle, *Chelonia mydas*, on the Islas Revillagigedo, Mexico. *Herpetological Review* 13:71.
- Bevan, E., W. Thane, E. Navarro, M. Rosas, B.M.Z. Najera, L. Sarti, F. Illescas, J. Montano, L.J. Pena & P. Burchfield. 2016. Using Unmanned Aerial Vehicle (UAV) technology for locating, identifying, and monitoring courtship and mating behavior in the green turtle (*Chelonia mydas*). *Herpetological Review* 47:27-32.
- Dutton, P.H., M.P. Jensen, A. Frey, E. LaCasella, G.H. Balazs, P. Zárate, O. Chassin-Noria, A.L. Sarti-Martinez & E. Velez. 2014. Population structure and phylogeography reveal pathways of colonization by a migratory marine reptile (*Chelonia mydas*) in the central and eastern Pacific. *Ecology and Evolution* 4:4317-4331.
- Dutton, P.H., R.A. LeRoux, E.L. LaCasella, J.A. Seminoff, T. Eguchi & D.L. Dutton. 2019. Genetic analysis and satellite tracking reveal origin of the green turtles in San Diego Bay. *Marine Biology* 166:1-13.
- Fernández-Sanz, H., J.A. Seminoff, L.A. Flores-Gasca, F.I. Hernández-Burgos, L.C. Magallón-Flores, E. Carone, J.A. Guevara-Franco & E. Reséndiz. 2024. Capítulo 7: Perspectivas actuales sobre la ecología de las Tortugas Marinas. Pp. 177-188. En V.M. Aguilar-Sánchez (Ed.), Área Marina del Archipiélago de Revillagigedo: Presente, pasado y future. Centro para la Biodiversidad Marina y la Conservación, A.C., México.
- Holroyd, G.L. & H.E. Trefry. 2010. The importance of Isla Clarion, Archipelago Revillagigedo, Mexico, for green turtle (*Chelonia mydas*) nesting. *Chelonian Conservation and Biology* 9:305-309.
- Juarez-Cerón, J.A., A.L. Sarti-Martinez & P.H. Dutton. 2003. First study of the green/black turtles of the Revillagigedo Archipelago: a unique nesting stock in the Eastern Pacific. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-503.70. USA.
- Kawazu, I., H. Okabe & N. Kobayashi. 2017. Direct observation of mating behavior involving one female and two male Loggerhead Turtles in the wild. *Current Herpetology* 36:69-72.
- Miller, J.D. 1996. Reproduction in sea turtles. Pp. 51-81. En P.L. Lutz & J.A. Musick (Eds). CRC Press. The Biology of Sea Turtles Volume I. Boca Raton, Florida, USA.
- Tiscareño, J.M., L.E. Frías-Hernández, E. Reséndiz, D.I. Vázquez-Arce, C.P. Vargas-Cossio, L.A. Flores-Gasca, F.I. Hernández-Burgos & H. Fernández-Sanz. 2022. Programa de monitoreo de anidación de tortugas marinas en el Archipiélago de Revillagigedo, Temporada 2022. Informe de Monitoreo. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. México.
- Tiscareño, J.M., E. Reséndiz, L.E. Frías-Hernández, N. Rivera-Reyes, O. Hernández-González, P. Berumen-Solorzano, D.I. Vázquez-Arce, L.A. Flores-Gasca, F.I. Hernández-Burgos, M.A. Muñoz-García & H. Fernández-Sanz. 2023. Condición de las tortugas marinas anidadoras en el Parque Nacional Revillagigedo. Temporada 2023. Informe de Monitoreo. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. México.



# FIRST RECORD OF NECROPHAGY BY PILLBUGS (*ARMADILLIDIUM VULGARE*) ON THE LINED TOLUCAN EARTHSNAKE (*CONOPSIS LINEATA*)

## PRIMER REGISTRO DE NECROFAGIA POR COCHINILLAS (*ARMADILLIDIUM VULGARE*) EN LA SERPIENTE TOLUQUEÑA RAYADA (*CONOPSIS LINEATA*)

Edgar De La Rosa-Silva<sup>1\*</sup>, Gabriel Suárez-Varón<sup>2</sup>, Gisela Granados-González<sup>2</sup>, Ilse E. Segura-Zarzosa<sup>3</sup> & Oswaldo Hernández-Gallegos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Herpetología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México, Instituto Literario No. 100, Colonia Centro, Toluca, Estado de México, México.

<sup>2</sup>Laboratorio de Morfofisiología de la Reproducción, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México, Instituto Literario No. 100, Colonia Centro, Toluca, Estado de México, México.

<sup>3</sup>Centro de Estudios Ecológicos FCB-UJED, Facultad de Ciencias Biológicas, Av. Universidad s/n Fracc. Filadelfia, Gómez Palacio, Durango, México.

\*Correspondence: [edgardelarosasilva@gmail.com](mailto:edgardelarosasilva@gmail.com)

Received: 2024-03-21. Accepted: 2024-07-19. Published: 2024-09-06.

Editor: Itzcoatl Maldonado Reséndiz, México.

**Resumen.**– La necrofagia involucra alimentarse de carroña. Como algunos de los principales promotores involucrados en el proceso de descomposición, los cadáveres son mayormente consumidos por artrópodos de los órdenes Diptera y Coleoptera, así como la subclase Acari, aunque algunas veces otras especies pueden cumplir tal función. Observamos una de aquellas instancias tras levantar una roca, encontrando una gran concentración de cochinillas (*Armadillidium vulgare*) consumiendo los restos de una serpiente Toluqueña Rayada (*Conopsis lineata*). Este es el primer reporte, hasta donde sabemos, de este tipo de comportamiento inusual en México. Las cochinillas son usualmente detritívoras; entonces, sugerimos que el cambio en la conducta proviene de un posible intento de complementar su dieta, y por lo tanto incrementar la supervivencia de los organismos al adquirir nutrientes difíciles de obtener encontrados en la carne descompuesta, especialmente durante la temporada de sequía, época donde tuvo lugar este evento.

**Palabras clave.**– Carroña, Colubridae, dieta, Estado de México, Oniscidea.

**Abstract.**– Necrophagy involves feeding upon carrion. As some of the main drivers involved in the process of decomposition, carcasses are mainly consumed by arthropod members of orders Diptera and Coleoptera, as well as the subclass Acari, though sometimes other species may carry out such a function. We observed one such instance after lifting a rock, finding a large concentration of pillbugs (*Armadillidium vulgare*) consuming the remains of a Lined Tolucan Earthsnake (*Conopsis lineata*). This is the first report, to our knowledge, of this type of unusual behavior in Mexico. Pillbugs are usually detritivores; thus, we suggest that the change in conduct stems from a possible attempt to complement their diet and increase the survival of the organism by acquiring hard-to-obtain nutrients found in decaying flesh, especially during the dry season, when this event took place.

**Keywords.**– Carrion, Colubridae, diet, Mexico State, Oniscidea.

Amongst the many feeding behaviors found in nature, necrophagy is perhaps one of the most peculiar. Necrophagy consists of the consumption of carrion biomass, in either a facultative or an obligate manner, which provides the organism with valuable nutrients (Trujillo et al., 2021). Though other

animal groups, such as elasmobranch fishes (Rada et al., 2015), non-avian sauropsids (e.g., snakes; Smith & Rojas, 2023), as well as birds and mammals (Demo et al., 2013; Olivia-Vidal et al., 2021) feature this behavior, arthropod fauna are the most heavily involved in the process of carrion putrefaction (Sawyer & Bloch,



2020). Though the species composition may change depending on environmental factors, the process of decay involves distinct periods of arthropod succession, usually spanning eight waves of different species (Braig & Perotti, 2009). These waves are mostly composed of insect species of the Diptera and Coleoptera orders (Maisonhaute & Forbes, 2020), with members of the arachnid subclass Acari involved, including during the first stages of decomposition (Braig & Perotti, 2009).

As they are rare, decomposing bodies in the environment create microhabitats that provide for many different communities (Barton et al., 2013). Besides serving as sustenance for necrophagous organisms, carrion also functions as refuge for 'non-associated arthropods', which include detritivores (e.g., organisms that consume decaying organic matter, primarily vegetation), such as crickets and terrestrial isopods (Sawyer, 2017). According to Segura-Zarzosa et al. (2020), in Mexico we know of at least 86 species of terrestrial isopods belonging to 16 different families, with a significant portion of them being non-native to the country. Within the Armadillidiidae family, recognizable for the ability of its members to roll themselves into a ball (Mulaik, 1960), one of these exotic species may be found. The pillbug (*Armadillidium vulgare*) is perhaps the most ubiquitous terrestrial isopod on the planet (Schmalfuss, 2013). *A. vulgare* possesses a convex, smooth body, colored dark grey or black, occasionally featuring yellow or brown spots (Mulaik, 1960; Segura-Zarzosa et al., 2020). It is known as a generalist detritivore, with a preference for plant litter (Rushton & Hassal, 1983; Faberi et al., 2011; Sánchez-Chopa & Descamps, 2019). However, there is evidence that this isopod species has presented cases of carnivory (Edney et al., 1974), herbivory (Paris & Sikora, 1965), and granivory (Saska, 2008).

Mexico has the second highest reptile species richness worldwide, with the most diverse snake family being Colubridae, composed of 319 species (72.7 % of Mexican ophidian species; Suazo-Ortuño et al., 2023). Found within family Colubridae, is the Lined Toluca Earthsnake (*Conopsis lineata*), a relatively small, viviparous snake with burrowing habits, easily identified by the brown scales of the dorsal region, which are broken by three to five black, vertical stripes; this coloration sets the species apart from other members of the genus (Goyenechea & Flores-Villela, 2006).

On May 6th, 2016 at 11:18 h, under a rock within the Parque de la Ciencia Sierra Morelos in Toluca, Mexico State, Mexico (19.3155° N, 99.6909° W; datum WSG84; 2,700 m a.s.l.), we discovered the carcass of a snake. We identified it as a specimen of the Lined Toluca Earthsnake (*C. lineata*), which was being eaten by a

large concentration of terrestrial isopods (*A. vulgare*), amongst piles of sticks, leaves and other decaying vegetation (Fig. 1). The individuals of *A. vulgare* seemed to be the main necrophagous organisms consuming *C. lineata*. Though a significant portion of the head and body were missing, fragments of clean bone were found, namely vertebrae and ribs, alongside desiccated scales and skin. Based on the condition of the remains, we determined that the snake was in the fourth stage of decomposition, according to the classification by Braig & Perotti (2009). It was due to these remaining features that we were able to positively identify the remains based on the size and the scale coloration pattern. Both features are unique to *C. lineata* and not seen in any other ophidian which inhabits the Parque de la Ciencia Sierra Morelos. Furthermore, we first identified *A. vulgare* through the photographs taken on May 6th, 2016 (Fig. 1) and using the guides written by Mulaik (1960) and Segura-Zarzosa et al. (2020). To confirm our findings, we returned to the exact discovery site on February 26th, 2024 with Gabriel Suárez Varón taking a sample of the available terrestrial isopods. We then analyzed them under a stereoscopic microscope to corroborate the species.

As previously mentioned, terrestrial isopods in general are detritivores which consume decomposing vegetal matter, such as fallen leaves, allowing for its nutrients to be reused in the ecosystem (Gerlach et al., 2014). Thus, a question remains: why resort to the consumption of carrion? In terrestrial isopods, there seems to be a tendency to shift from one type of food to another during the drought season. Some species cease being vegetarians and become scavengers, a behavior previously observed in *A. vulgare* (Paris & Sikora, 1967). These changes in diet are to some extent seasonal and are reflected in the fatty acid composition of the isopod (Zar & White, 1969). This coincides with the observation date, as the month of May is the peak of the dry season at the study site. Furthermore, Wenting et al. (2023), notes that carrion contains valuable nutrients, including vital elements difficult to obtain in nature, such as cobalt (Co), as well as selenium (Se), which are accumulated in larger quantities in dead organisms. Mattson (1980) also talks about the importance of nitrogen to animals, and indeed, determines that arthropod herbivores tend to select food items based on their respective nitrogen dietary needs. Survival of juveniles and adults of *A. vulgare* is likely related to the nitrogen availability in their diets (Faber et al., 2011), and as bodily remains tend to contain a higher nitrogen concentration (6-12 %) than plant detritus (1-2 %; Parmenter & MacMahon, 2009), it is plausible that the individuals of *A. vulgare* could be complementing their nutritional needs, especially during the dry season, where appropriate food items might be scarce, by consuming carrion. With these points in mind, the answer is clear: acquisition of



**Figura 1.** Cochinitas (*Armadillidium vulgare*) consumiendo los restos de un espécimen de la serpiente Toluqueña Rayada (*Conopsis lineata*), en el Parque de la Ciencia Sierra Morelos, Toluca, Estado de México, México.

**Figure 1.** Pillbugs (*Armadillidium vulgare*) consuming the remains of a Lined Toluca Earthsnake (*Conopsis lineata*) specimen, at Parque de la Ciencia Sierra Morelos, Toluca, Mexico State, Mexico.

these otherwise difficult to obtain alimentary sources would greatly enhance the fitness of *A. vulgare* specimens, ensuring their survival.

It is also important to note that *A. vulgare* represents an invasive species (Schmalfuss, 2013) that has become a predominant pest in some agricultural areas which employ no-tillage methods, consuming seeds and seedlings that significantly decrease crop density (Faber et al., 2011). The presence of *A. vulgare* is also related to a decrease in native isopod diversity, that cannot compete against their anatomical features, which grant them an increased tolerance to dry conditions and allows them to settle in fragmented and open habitats (Vona-Túri et al., 2018). Our findings exemplify the aspects that allow *A. vulgare*, and other invasive species to be so successful, that is, their capacity to better employ and exploit the resources on the sites where they are introduced, compared to native species (Simberloff, 2010), as well as adapting to adverse conditions (Burgiel & Muir, 2010). This can be clearly seen in this instance, as by partaking in an opportunistic feeding event upon the snake's remains, *A. vulgare* individuals in the Parque de la Ciencia Sierra Morelos are able to occupy a new environmental niche.

As far as we are aware, this is the first report of this type of unusual behavior in *A. vulgare* in Mexico. There are very few studies analyzing the responses of terrestrial isopods towards food items, and their significance related to growth or reproduction. We hope that the information presented here may complement the current knowledge in this invasive species of terrestrial isopod that has near global distribution.

**Acknowledgements.**— We thank the foresters and staff of the Parque de la Ciencia Sierra Morelos, for allowing us to carry our research in the premises. We also appreciate the assistance provided by Karina Cuevas Yañez in reviewing the initial taxonomy and contacting us with a specialist. Erika De La Rosa Silva aided us by editing the figures.

## CITED LITERATURE

- Barton, P.S., S.A. Cunningham, D.B. Lindenmayer & A.D. Manning. 2013. The role of carrion in maintaining biodiversity and ecological processes in terrestrial ecosystems. *Oecologia* 171:761-772.
- Braig, H.R. & M.A. Perotti. 2009. Carcasses and mites. *Experimental and Applied Acarology* 49:45-84.
- Burgiel, S.W. & A.A. Muir. 2010. Invasive Species, Climate Change and Ecosystem-Based Adaptation: Addressing Multiple Drivers of Global Change. Global Invasive Species Programme (GISP), Washington D.C., USA & Nairobi, Kenya.
- Demo, C., E.R. Cansi, C. Kosmann & J.R. Pujol-Luz. 2013. Vultures and others scavenger vertebrates associated with man-sized carcasses: a perspective in Forensic Taphonomy. *Zoologia* 30:574-576.
- Edney E.B., W. Allen & J. Macfarlane. 1974. Predation by terrestrial isopods. *Ecology* 55:428-433.
- Faber, A.J., A.N. López, N.L. Clemente & P.L. Manetti. 2011. Importance of diet in the growth, survivorship and reproduction of the no-tillage pest *Armadillidium vulgare* (Crustacea: Isopoda). *Revista Chilena de Historia Natural* 84:407-417.
- Gerlach, A., D.J. Russell, B. Jaeschke & J. Römbke. 2014. Feeding preferences of native terrestrial isopod species (Oniscoidea, Isopoda) for native and introduced leaf litter. *Applied Soil Ecology* 83:95-100.
- Goyenechea, I. & O. Flores-Villela. 2006. Taxonomic summary of *Conopsis*, Günther, 1858 (Serpentes: Colubridae). *Zootaxa* 1271:1-27.
- Maisonhaute J.E. & S.L. Forbes. 2020. Decomposition process and arthropod succession on pig carcasses in Quebec (Canada). *Canadian Society of Forensic Science Journal* 54:1-26.
- Mulaik, S.B. 1960. Contribución al conocimiento de los isópodos terrestres en México (Isopoda, Oniscoidea). *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural* 21:1-147.
- Mattson, W.J. 1980. Herbivory in relation to plant nitrogen content. *Annual Review of Ecology and Systematics* 11:119-161.
- Olivia-Vidal, P., J. Tobajas & A. Margalida. 2021. Cannibalistic necrophagy in red foxes: do the nutritional benefits offset the potential costs of disease transmission? *Mammalian Biology* 101:1115-1120.
- Paris O.H. & A. Sikora. 1965. Radiotracer demonstration of isopod herbivory. *Ecology* 46:729-734.
- Paris O.H. & A. Sikora. 1967. Radiotracer analysis of the trophic dynamics of natural isopod populations. Pp. 741-771. En: K. Petrusewicz (Ed.), *Secondary productivity of terrestrial*

- ecosystems (principles and methods). Institute of Ecology Polish Academy of Science, Warsaw, Poland.
- Parmenter, R.R. & J.A. MacMahon. 2009. Carrion decomposition and nutrient cycling in a semiarid shrub-steppe ecosystem. *Ecological Monographs* 79:637-661.
- Rada, D.P., G.H. Burgess, R.S. Rosa & O.B.F. Gadig. 2015. Necrophagy of a nurse shark (*Ginglymostoma cirratum*) by tiger sharks (*Galeocerdo cuvier*). *Universitas Scientiarum* 20:313-320.
- Rushton S.P. & M. Hassall. 1983. Food and feeding rates of the terrestrial isopod *Armadillidium vulgare* (Latreille). *Oecologia* 57:415-419.
- Sánchez-Chopa, C. & L.R. Descamps. 2019. Métodos alternativos para disminuir los daños de *Armadillidium vulgare* (Crustacea: Isopoda) en lotes bajo siembra. *Dominguezia* 31:81-85.
- Saska, P. 2008. Granivory in terrestrial isopods. *Ecological Entomology* 33:742-747.
- Sawyer, S.J. 2017. Effects of carrion decomposition on arthropod community structure and habitat seeking behavior. Honored thesis. Bridgewater State University, Bridgewater, Massachusetts, USA.
- Sawyer, S.J. & C.P. Bloch. 2020. Effects of carrion decomposition on litter arthropod assemblages. *Ecological Entomology* 45:1499-1503.
- Schmalfuss, H. 2013. The species of the genus *Armadillidium* (Isopoda: Oniscidea) known from Greece. *Stuttgarter Beiträge zur Naturkunde A (Biologie)* 6:13-20.
- Segura-Zarzosa, I.E., G.A. Rodríguez-Almaraz, H. Obregón-Barboza, G. Murugan, J.A. Treviño-Flores & A.M. Maeda-Martínez. 2020. New records of exotic species of Oniscidea (Crustacea: Isopoda) from northern Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 91:1-28.
- Simberloff, D. 2010. Invasive species. Pp. 131-148. In Sodhi N.S. & P.R. Ehrlich (Eds.). *Conservation Biology for All*. Oxford University Press, New York, New York, USA.
- Smith, P. & F. Rojas. 2023. Necrophagy by *Erythrolamprus poecilogyrus* (Wied, 1824) (Reptilia: Dipsadidae) in Paraguay. *Revista Latinoamericana de Herpetología* 6:13-16.
- Suazo-Ortuño, I., A. Ramírez-Bautista & J. Alvarado-Díaz. 2023. Amphibians and Reptiles of Mexico: Diversity and Conservation. Pp. 105-127. En R.W. Jones, C.P. Ornelas-García, R. Pineada-López & F. Álvarez (Eds.). *Mexican Fauna in the Anthropocene*. Springer Nature Switzerland, Cham, Suiza.
- Trujillo, L.A., F. Gual-Suárez, R.E. Trujillo & R.A. Medellín. 2021. Arachnids that feed on vertebrate carrion: necrophagy by the whip spider *Paraphrynus raptator* (Amblypygi: Phryniidae) and its relation to the feeding behavior of the woolly false vampire bat *Chrotopterus auritus* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Journal of Arachnology* 49:307-409.
- Vona-Túri, D., T. Szmátóna-Túri, B. Gál, A. Weiperth & B. Kiss. 2018. Invasive occurrence and abundance changes of *Armadillidium vulgare* (Latreille, 1804) in Hungarian roadside verges. *Periodicum Biologorum* 120:91-103.
- Wenting, E., P.A. Jansen, M.J.B. Laugeman & F. van Langevelde. 2023. Leakage of nutrients into the soil due to carrion decomposition can enhance plant growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 23:6874-6879.
- Zar J.H. & J.J. White. 1969. Seasonal variation in the fatty acid composition of the woodlouse, *Tracheoniscus rathkei*. *Transactions of the Illinois State Academy of Science* 62:410-412.



REGISTROS COMPLEMENTARIOS DE *LAEMANCTUS SERRATUS* (SQUAMATA: CORYTOPHANIDAE) EN EL ESTADO DE HIDALGOCOMPLEMENTARY RECORDS OF *LAEMANCTUS SERRATUS* (SQUAMATA: CORYTOPHANIDAE) IN HIDALGO STATEAmayrani E. Trejo-Montero<sup>1</sup>, Nallely Morales-Capellán<sup>1</sup>, Fernando Ricardo Mendoza-Paz<sup>2</sup>, Manuel Ángel Cruz Rosales<sup>3</sup>, Dulce García-Sánchez<sup>4</sup> & Leonardo Fernández-Badillo<sup>1,5\*</sup><sup>1</sup>Predio Intensivo de Manejo de Vida Silvestre X-Plora Reptilia, km 65 carretera México-Tampico, Pilas y Granadas, Metztlán, Hidalgo, México.<sup>2</sup>Instituto Tecnológico de Huejutla, km 5.5 carretera Huejutla-Chalahuiyapa, Huejutla de Reyes, Hidalgo, México.<sup>3</sup>Centro Ecoturístico El Encinal S.P.R. de R.L. de C.V. km 1.5 carretera San Felipe Orizatlán-Tamazunchale, San Felipe Orizatlán, Hidalgo, México.<sup>4</sup>Calle Ocampo #79, Col. La Camelia, Zacualtipán de Ángeles, Hidalgo, México.<sup>5</sup>Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Km 4.5 carretera Pachuca-Tulancingo, s/n, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México.

\*Correspondence: fernandezbadillo80@gmail.com

Received: 2024-05-30. Accepted: 2024-07-11. Published: 2024-09-06.

Editor: Norberto Martínez Méndez, México.

El toloque coronado (*Laemanctus serratus*) es una lagartija perteneciente a la familia Corytophanidae. Presenta una talla mediana, de entre 120 a 130 mm de longitud hocico-cloaca (LHC), aunque se cuenta con registros de una talla máxima de 150 mm de LHC. El cuerpo esta comprimido lateralmente y la cola es de tres a cuatro veces más larga que la LHC, mientras que las extremidades y los dedos son largos y delgados (Boulenger, 1885; Lee, 1996; Campbell, 1998; Heimes, 2022). Su característica principal es la presencia de una corona plana en la cabeza, que asemeja un casco, con una hilera de escamas cónicas agrandadas que bordean el margen posterior de la corona (Calderón-Mandujano, 2002; Lemos-Espinal & Dixon, 2013; Heimes, 2022). Las escamas dorsales de la parte anterior de la cabeza son más largas que las posteriores y son más o menos simétricas bilateralmente; las escamas del cuerpo y de las extremidades son imbricadas y fuertemente quilladas, mientras que las de la hilera vertebral son agrandadas, formando una cresta aserrada. La coloración del dorso de la cabeza es verde pálido con puntos o rayas cafés. La coloración dorsal del cuerpo varía entre el verde lima, verde pálido o verde bronceado, con entre cuatro y seis bandas dorsales. La cola se encuentra bandeada y las extremidades son verdes con puntos o reticulaciones cafés, y el vientre generalmente es verde pálido (Lemos-Espinal & Dixon, 2013, 2016; Heimes, 2022).

*Laemanctus serratus* se distribuye por la vertiente del Atlántico, desde Tamaulipas en México hasta Honduras (McCranie & Köhler, 2004), en un intervalo altitudinal de los 0 a los 1,600 m s.n.m (Heimes, 2022). En México se ha registrado en los estados

de Chiapas, Veracruz, Oaxaca, Querétaro, Guanajuato, Hidalgo, San Luis Potosí, Tamaulipas, Campeche, Yucatán y Quintana Roo (Lee, 1996; Campbell, 1998), donde habita bosques tropicales caducifolios y bosques mesófilos de montaña (Lemos-Espinal & Dixon, 2013; Ramírez-Bautista et al., 2014).

El primer registro de la especie para Hidalgo, fue publicado por Dugès (1896), para la zona de Zacualtipán, sin incluir información precisa del lugar de la recolecta. Posteriormente, Ramírez-Bautista et al. (2010) mencionan dos registros de la especie para el municipio de Huejutla de Reyes, depositados en la colección herpetológica del Instituto Tecnológico de Huejutla (ITAH), pero no incluyen los números de catálogo de dichos ejemplares. Por otro lado, Lara-Tufiño (2014) encontró un ejemplar adulto en el municipio de Pisaflores, el cual no fue recolectado y lamentablemente las fotografías del ejemplar se perdieron (Lara-Tufiño *com. pers.*). Asimismo, Ramírez-Bautista et al. (2014), mencionan su presencia para el municipio de Molango de Escamilla, pero no incluyen ninguna evidencia de ejemplares o fotos depositadas en colecciones que permitan corroborar el registro. De igual forma, Lemos-Espinal & Dixon (2016) mencionan su presencia para el municipio de Zacualtipán de Ángeles, sin incluir números de catálogo del ejemplar.

En esta nota, presentamos cinco registros de *L. serratus* para el estado de Hidalgo (Tabla 1) en municipios donde la especie no había sido observada, obtenidos a partir de avistamientos en campo, registros fotográficos de Naturalista (<https://www.naturalista.mx/>) y ejemplares depositados en el ITAH.

**Table 1.** Locality records of *Laemanctus serratus* in Hidalgo. SF= Without record date. / **Tabla 1.** Localidades de registro de *Laemanctus serratus* en Hidalgo. SF= Sin fecha de registro.

No. de catálogo / Fuente del registro	Fecha de registro	Localidad	Municipio	Latitud	Longitud	Altitud (m s.n.m.)
MZFZ-IMG541	09/05/23	Xoxolpa	Yahualica	20.86581	-98.415588	567
<a href="https://www.naturalista.mx/observations/105111770">https://www.naturalista.mx/observations/105111770</a>	17/01/22	Ejido Ahuatempa-Totoncapa	San Felipe Orizatlán	21.143692	-98.597906	237
ITAH-1516	13/05/07	Pahactla	Atlapexco	20.9756	-98.3586	406
ITAH-1668	24/06/07	Ixtlahuac	Huazalingo	20.958056	-98.491945	362
ITAH-561	S/F	Santa Irene	Tlanchinol	20.96251	-98.5666	802

Decidimos no incluir aquellos registros de literatura que no cuentan con evidencia de respaldo (números de catálogo de ejemplares o fotografías depositadas en colecciones), de este modo, presentamos un mapa únicamente con los registros confirmados de la especie en Hidalgo, con la finalidad de brindar información precisa sobre su distribución en la entidad.

El 9 de mayo de 2023 a las 14:23 h, Dulce García Sánchez observó un ejemplar en la comunidad de Xoxolpa, municipio de Yahualica (20.86581° N, 98.415588° W, WGS 84, elev. 567 m s.n.m.), el cual se encontraba perchando en la vegetación y únicamente fue fotografiado (Figura 1A). La fotografía del ejemplar fue depositada en la Colección Digital de Vertebrados



**Figure 1.** Photographs of the individuals of *Laemanctus serratus* that represents first municipality records for the Hidalgo state, Mexico. A) Xoxolpa, Yahualica. B) Ahuatempa-Totoncapa ejido, San Felipe Orizatlán.

**Figura 1.** Fotografías de los individuos de *Laemanctus serratus*, que representan primeros registros municipales para el estado de Hidalgo, México. A) Xoxolpa, Yahualica. B) Ejido Ahuatempa-Totoncapa, San Felipe Orizatlán.

de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México con el número de catálogo MZFZ-IMG541.

El 17 de enero de 2022 en el ejido Ahuatempa-Totoncapa, municipio de San Felipe Orizatlán, Hidalgo, México (21.143692° N, 98.597906° W, WGS 84, elev. 237 m s.n.m ), se encontraron dos ejemplares; sin embargo, uno fue sacrificado y otro herido por los pobladores locales (Manuel Ángel Cruz Rosales *com. pers.*; Figura 1B). El registro se obtuvo del portal Naturalista (<https://www.naturalista.mx/observations/105111770>), y se contactó personalmente al autor para obtener los datos precisos de la observación.

En la colección del ITAH se encontraron tres ejemplares que permiten documentar por primera vez la presencia de la especie en los municipios de Atlapexco (ITAH-1516), Huazalingo (ITAH-1668) y Tlanchinol (ITAH-561). Por otro lado, en la colección del ITAH se confirmó el número de catálogo de los registros

referidos por Ramírez-Bautista et al. (2010) para el municipio de Huejutla de Reyes (ITAH-660, ITAH-1536) y se encontró un registro adicional para este municipio (ITAH-243).

Respecto a la observación realizada por Dugès en 1896 en Zacualtipán y citada posteriormente por Lemos-Espinal y Dixon (2016), Schäti y Kucharzewski (2018) mencionan que, debe interpretarse en un sentido geográfico amplio, ya que el lugar en el que pudo haber muestreado Dugès, correspondería a zonas a lo largo del Río Atlapexco o el Río Amajac en las tierras bajas de la Huasteca. Por otro parte, al no existir información precisa de la ubicación de la observación realizada por Dugès, no es posible asegurar que se haya observado en dicho municipio y no es posible georreferenciarla con precisión, ya que de acuerdo a la carta topográfica del estado de Hidalgo de 1869 (INEGI, 1997), el distrito de Zacualtipán comprendía un área geográfica mucho más amplia de lo que abarca ahora el municipio de Zacualtipán de Ángeles (INEGI, 1997). Por otro lado, se desconoce el origen del registro referido por Lemos-Espinal y Dixon (2016), ya que

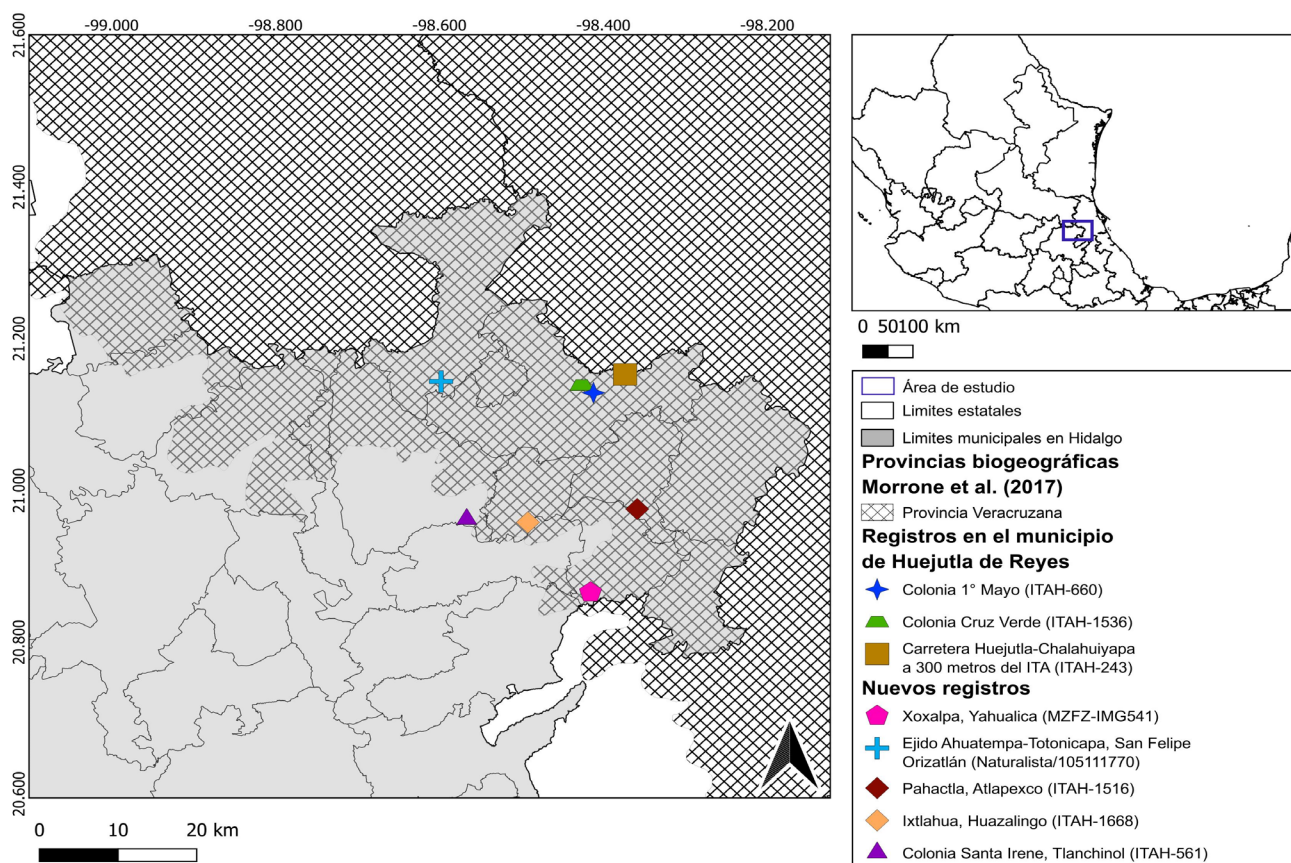


Figure 2. Locality map records of *Laemanctus serratus* in Hidalgo state, Mexico.

Figura 2. Mapa de las localidades de registro de *Laemanctus serratus* en el estado de Hidalgo, México.

como se mencionó anteriormente, no cuenta con números de catálogo del ejemplar, además, se encuentra a una elevación de 2,107 m s.n.m., dentro de la provincia biogeográfica de la Sierra Madre Oriental, lo cual no corresponde con la historia natural de la especie, ya que esta ocurre en un intervalo altitudinal que oscila desde los 0 hasta los 1,600 m s.n.m, principalmente en bosques tropicales y mesófilos de montaña (Wilson et al., 2010; Lemos-Espinal & Dixon, 2013; Ramírez-Bautista et al., 2014), de la provincia Veracruzana (INEGI, 2013; Morrone et al., 2017).

De acuerdo con Ramírez-Bautista et al. (2014), la información del registro de la especie para el municipio de Molango de Escamilla se encuentra en el trabajo de Ramírez-Bautista et al. (2010); sin embargo, este no incluye ningún registro para el municipio. Aunado a ello, *L. serratus* no se encuentra listado en el trabajo más reciente sobre la herpetofauna de Molango de Escamilla (Juárez-Escamilla, 2015) y hasta la fecha no existe ninguna evidencia (fotos o ejemplares depositados en colecciones) que permita confirmar su distribución en este municipio, por lo que es necesario llevar a cabo otros muestreos para corroborar su presencia. De igual manera, en el futuro será necesario realizar trabajo de campo para corroborar la información presentada por Lara-Tufiño (2014) para el municipio de Pisaflores, así como en otras zonas de la provincia Veracruzana en Hidalgo, para incrementar la información de su distribución en el estado.

Con base en la información anterior, los registros confirmados de la distribución de la especie en el estado de Hidalgo, se ubican en los municipios de Atlapexco, Huazalingo, Huejutla de Reyes, San Felipe Orizatlán, Tlanchinol y Yahualica (Figura 2), sin embargo, es posible que se encuentre en otros municipios de la Huasteca Hidalguense o de la zona tropical de la Sierra Otomí-Tepihua.

*Laemanctus serratus* es una especie catalogada bajo protección especial de acuerdo a la NOM-059-SEMARNAT-2010 (DOF, 2019), por lo que resulta necesario contar con información precisa acerca de su distribución, ya que el cambio de uso de suelo y la destrucción de su hábitat, son factores que contribuyen a la disminución de sus poblaciones (Cruz-Elizalde et al., 2017). Los pobladores de las comunidades de la Huasteca hidalguense, asocian a esta lagartija con una especie venenosa, creyendo que sus crestas en la cabeza son utilizadas para “picar” a las personas. También se relaciona a esta especie con una serpiente debido a su larga cola. Su cercanía a los cafetales y a las milpas las hacen vulnerables ante estos mitos (Mendoza-Paz, *com. pers.*) y, aunque no se tienen datos sobre algún tipo de aprovechamiento por parte del hombre en el estado de Hidalgo (Valencia-Herverth

et al., 2021), no se descarta que el comercio clandestino pueda influir en la reducción de sus poblaciones, ya que es una especie atractiva y puede ser utilizada como mascota (Calderón-Mandujano, 2002) y de la cual se ha observado venta ilegal de ejemplares en mercados y páginas en internet.

**Agradecimientos.**—Agradecemos al Dr. Uri O. García Vázquez por permitirnos depositar las fotografías de los ejemplares en la Colección Digital de Vertebrados de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. A los dos revisores anónimos del presente trabajo, por sus valiosos comentarios.

## LITERATURA CITADA

- Boulenger, G.A. 1885. Catalogue of the Lizards in the British Museum (Natural History). Vol. II. 2nd ed. Trustees of the British Museum (Natural History), London, UK.
- Calderón-Mandujano, R. 2002. *Laemanctus serratus*. Propuesta para la realización de 37 fichas biológicas de las especies de herpetofauna incluidas en la NOM-059 presentes en la Península de Yucatán. Museo de Zoología, ECOSUR- Unidad Chetumal. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto Wo30. México D.F., México.
- Campbell, J.A. 1998. Amphibians and Reptiles of Northern Guatemala, the Yucatán, and Belize. University of Oklahoma Press, Norman, Oklahoma, USA.
- Cruz-Elizalde, R., A. Ramírez-Bautista, D.R. Aguillón-Gutiérrez, I. Magno-Benítez & R. Hernández-Austria. 2017. Principales amenazas para la biodiversidad y perspectivas para su manejo y conservación en el estado de Hidalgo: El caso de los anfibios y reptiles. Pp. 577-590. En A. Ramírez-Bautista, A. Sánchez-González, G. Sánchez-Rojas & C. Cuevas-Cardona (Eds.), Biodiversidad del Estado de Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca de Soto, Hidalgo, México.
- DOF. Diario Oficial de la Federación. 2019. Modificación del Anexo Normativo III, Lista de especies en riesgo de la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio- Lista de especies en riesgo, publicada el 30 de diciembre de 2010.





- Dugès, A. 1896. Reptiles y batracios de los Estados Unidos Mexicanos. *La Naturaleza* 2:479-485.
- Heimes, P. 2022. Herpetofauna Mexicana Vol. 2 - Lizards of Mexico - Part I. Iguanian Lizards. Edition Chimaira, Frankfurt am Main, Germany.
- INEGI. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 1997. División Territorial del estado de Hidalgo de 1810 a 1995. INEGI, Aguascalientes, Aguascalientes, México.
- INEGI. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 2013. Conjunto de datos geográficos de la carta de uso de suelo y vegetación, serie v, escala 1:250 000. INEGI, Aguascalientes, Aguascalientes, México.
- Juárez-Escamilla, J.D. 2015. Diversidad de anfibios y reptiles en bosques y potreros del municipio de Molango de Escamilla, Hidalgo, México Tesis de Licenciatura. Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca de Soto, Hidalgo, México.
- Lara-Tufiño, J.D. 2014. Diversidad de la herpetofauna en áreas de bosques primarios, agroecosistemas y potreros de Pisaflores, Hidalgo, México. Tesis de Licenciatura. Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del estado de Hidalgo, Pachuca de Soto, Hidalgo, México
- Lee, J.C. 1996. The amphibians and reptiles of the Yucatán Peninsula. Comstock Publishing Associates a division of Cornell University Press, Ithaca, New York, USA.
- Lemos-Espinal, J.A. & J.R. Dixon. 2013. Amphibians and reptiles of San Luis Potosí. Eagle Mountain Publishing, LC. Eagle Mountain, Utah, USA.
- Lemos-Espinal, J.A. & J.R. Dixon. 2016. Anfibios y reptiles de Hidalgo. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Ciudad de México, México.
- McCranie, J.R. & G. Köhler. 2004. *Laemanctus serratus* Cope. Serrate Casque headed Basilisk, Cutete Espinado. *Catalogue of American Amphibians and Reptiles* 796:1-5.
- Morrone, J.J., T. Escalante & G. Rodríguez-Tapia. 2017. Mexican biogeographic provinces: map and shapefiles. *Zootaxa* 4277:277-279.
- Ramírez-Bautista, A., U. Hernández-Salinas, F. Mendoza-Quijano, R. Cruz-Elizalde, B.P. Stephenson, V. Vite-Silva & A. Leyte-Manrique. 2010. Lista anotada de los anfibios y reptiles del Estado de Hidalgo, México. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y Comisión para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pachuca de Soto, Hidalgo, México.
- Ramírez-Bautista, A., U. Hernández-Salinas, R. Cruz-Elizalde, C. Berriozabal-Islas, D. Lara Tufiño, I. Goyenechea-Mayer-Goyenechea & J.M. Castillo-Cerón. 2014. Los Anfibios y Reptiles de Hidalgo, México: Diversidad, Biogeografía y conservación. Primera edición. Sociedad Herpetológica Mexicana A.C., Pachuca de Soto, Hidalgo, México.
- Schäti, B. & C. Kucharzewski. 2018. Identity, origin, and distribution of Auguste Ghiesbreght's Mexican amphibians and reptiles. *Mesoamerican Herpetology* 5:85-110.
- Valencia-Herverth, J., L. Fernández-Badillo & S.M.A. Mejenes-López. 2021. Uso tradicional de vertebrados silvestres. Pp. 355-364. En CONABIO (Ed), *La Biodiversidad en Hidalgo. Estudio de Estado*. CONABIO, Ciudad de México, México.
- Wilson, L.D., J.H. Townsend & J.D. Johnson. 2010. Conservation of Mesoamerican Amphibians and Reptiles. Eagle Mountain Publisher, Eagle Mountain, Utah, USA.

