



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**“EL AJOLOTE *Ambystoma mexicanum*: SU MANEJO Y
REPRODUCCIÓN EN CAUTIVERIO”**

(AMPHIBIA: URODELA: AMBYSTOMATIDAE)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G A

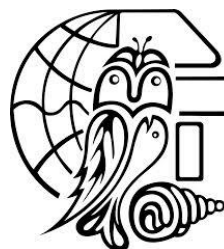
P R E S E T A

Rosa María Estrada Romero

Director de tesis:

M. en C. Felipe Correa Sánchez

Los Reyes Iztacala, Estado de México, 2015





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

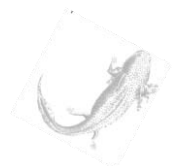
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
Distribución.....	2
Ciclo de vida.....	4
Conducta reproductiva.....	5
ANTECEDENTES	9
SISTEMÁTICA DE LA ESPECIE	11
OBJETIVOS	12
Objetivo general.....	12
Objetivos particulares.....	12
JUSTIFICACIÓN	13
MATERIALES Y MÉTODOS	14
MANTENIMIENTO	15
Organismos adultos y juveniles.....	15
Alimentación para adultos y juveniles.....	16
Mantenimiento de alevines.....	16
Alimentación para alevines.....	17
Registro de parámetros para el análisis del agua.....	17
DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA	18
REPRODUCCIÓN	20
Conducta reproductiva.....	20
OBSERVACION DE FASES DEL DESARROLLO EMBRIONARIO	22
TABLA DE VIDA	22
SUPERVIVENCIA	22
MANTENIMIENTO CON DIFERENTES SOLUCIONES	23
RESULTADOS	24
DISCUSIÓN	37
CONCLUSIONES	45
LITERATURA CITADA	46
ANEXOS	54



“What which we know is a drop, what we ignore a vast ocean. The admirable arrangement and harmony is the universe, unable but leave the plan of a divine being”

Isaac Newton



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México

Gracias por ser un segundo hogar, que ha impulsado mi gusto por la Biología.

A mi alma máter la Facultad de Estudios Superiores Iztacala

Por todas las oportunidades que me has dado y el conocimiento que me brindaste.

Al Laboratorio de Herpetología "Vivario"

Por hacer que la Biología sea más que un modo de vida.

Al Ajolotario

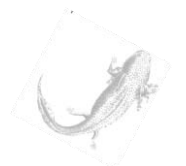
Por darme un espacio para desarrollar un proyecto e interactuar más de cerca con la naturaleza.

A mi Asesor M. en C. Felipe Correa Sánchez

Por dirigir este trabajo, por su paciencia, consejos, apoyo y su buen humor. Gracias por acercarme cada día al mundo de la biología y a valorar a los animales.

A la M. en D. Gabriela Sánchez Fabila

Gracias por ser una guía, brindarme su ayuda, consejos y enseñanzas, así como aprender de mis errores y enfrentar mis miedos, en mi formación académica. La biología nunca dejara de sorprendernos. La quiero mucho.



A la M. en C. Sandra Fabiola Arias Balderas

Por tus comentarios y enseñanzas para la elaboración de este trabajo. Gracias por los buenos momentos y todo lo que aprendí, fue una gran experiencia.

Al Biol. Raúl Rivera Velázquez

Por sus valiosos consejos y apoyo para este trabajo. Gracias por animarme en los momentos difíciles y perseverar para cumplir mis metas.

Al M. en C. Rodolfo García Collazo

Gracias por todo su orientación, sus consejos y por todo el apoyo brindado para el desarrollo de esta tesis.

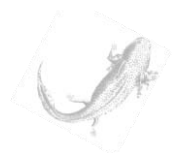
A los ajolotitos

Andromeda, Megara, Gerkat, Hope, Artemisa, Manchitas, Skiper, Greenky, Carlitos, Julien y a los bebes por ser parte del proyecto para la elaboración de esta tesis, porque con ellos no sentí el pasar del tiempo.

M. en C. Guadalupe Eugenia Daleth Guedea Fernández y al Biol. Osvaldo Cervantes Zamudio

Gracias por el apoyo en el área de microscopia, son grandes maestros que me enseñaron a mirar lo que no vemos a simple vista.

Gracias a mis maestros de la carrera por ser parte de mi formación y ser partícipe de tan bella carrera, además de brindarme su apoyo incondicional.



DEDICATORIAS

A ti mamá:

Descubrí que eres una maga, porque siempre conviertes mis lágrimas en sonrisas con solo un abrazo. De ti aprendí a amar a los animales, a cuidarlos y protegerlos, gracias por tu incondicional apoyo y por creer en mí. Te amo.

A ti papá:

Gracias por enseñarme a valorar la naturaleza y luchar día con día por mi futuro.

A ti Sofi,

Por siempre estar ahí para apoyarme, para superar los momentos más difíciles y estar presente en los momentos más felices de mi vida. Gracias por enseñarme que se hacen realidad tus sueños, solamente si enfrentas tus miedos. Te amo.

A mi tía Elena

Porque tú eres parte de este sueño, y que en todo momento tu creíste en mí. El mundo de la ciencia siempre ha sido parte de nosotras. Te amo.

A mis tíos: Tomás, Vicente, Pancho y Arnulfo

Por impulsar ese interés hacia la biología, por enseñarme que la familia es importante. Gracias por brindarme momentos de alegría y su apoyo incondicional.

A mis abuelitos

Porque siempre van a estar en mi corazón, gracias por enseñarme a valorar cada logro en la vida y a luchar por nuestros sueños.



A mis amigos del vivario y del Ajolotario

Lupita, Cesar, Kary, Fanny, Thay, Sacni, Sergio, Daniel, Joab, Aarón, Erick, Kevin, Martín, Bruno y Noé, por hacer de mis últimos días en la facultad los más divertidos. Los quiero.

A mis amigos de la carrera Ali, Natafy, Beto, Manuel, Max, Fanny, Aldair, Danae e Itzul, porque sin ustedes no sería Biología, gracias por su incondicional apoyo.

A Maricruz, por enseñarme a vencer mis miedos, angustias, tristezas y comprender que la felicidad y el amor es lo que más importa. Gracias por ser mi guía en este sueño.

Gracias Dios por acompañarme en este camino y en los próximos, gracias por crear cosas tan magnificas como la naturaleza y permitirme estudiarlas.

A mi amigo Manuel, por haberme iniciado en el estudio de los Ambystomas, me has enseñado que un amigo es difícil de conseguir.

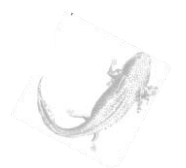
A Lau, Chio, Anny y Erica

Por creer en mí, gracias por ser mis amigas y estar ahí cuando más las necesito, tener su amistad es un privilegio para mí. Me hubiera gustado conocerlas antes. Las quiero.

Gracias a la consentida de la casa "Chiquis", por ser aquella compañera que estuvo a lo largo de toda la carrera, aligeraste este camino con tu presencia.

A la Naturaleza.

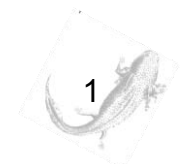
A ti que estás leyendo este escrito.



Resumen

El ajolote mexicano (*A. mexicanum*) también llamado axolotl, es un urodelo endémico del Valle de México, que habita en los canales del lago de Xochimilco, y posiblemente en Chalco, Zumpango y Xaltocan, se le conoce por ser la especie neoténica más común en cautiverio. Ha sido un modelo de estudio excelente para diversas áreas, cuyo propósito es contribuir con la conservación y fomentar la investigación de la especie. Por este motivo en este trabajo se evaluaron aspectos de mantenimiento y reproducción de *A. mexicanum* en la colonia de la FES Iztacala. Las condiciones en las que se mantuvieron los organismos fueron las adecuadas, con temperatura entre los 12–18 °C y un pH 7.0 a 7.7. El ANCOVA, no mostró diferencias significativas de AIC (alto cabeza) y LC (largo cabeza), pero si en LT (longitud total: $n=40$, $r^2 = 0.21$, $p<0.05$) y AnC (ancho cabeza: $n=40$, $r^2=0.12$, $p<0.05$), entre hembras y machos. Las parejas reproductivas se mantuvieron con temperaturas entre 16 a 18 °C, donde se observaron conductas de cortejo que se han reportado para el orden Caudata. Se observó una correlación positiva ($N=5$, $r^2=0.44$, $p<0.05$), entre el número de huevos y la LHC (longitud hocico cloaca) de la hembra. Se encontró que la temperatura influye en el desarrollo embrionario. En un periodo de 12 meses se obtuvieron 13 puestas con un promedio de 426 huevos. Se dio un mayor número de puestas durante el invierno con un 8.74% de supervivencia. Durante la primavera se obtuvo un mayor tamaño de puesta y mayor porcentaje de fertilidad, para el verano se registró un mayor número de huevos infértiles. La supervivencia de las puestas, mostró una curva de tipo III. En los primeros cuatro meses se observó una alta mortalidad, posteriormente se estabilizó la supervivencia entre el quinto y séptimo mes. Los ajolotes mantenidos en el agua de grifo declorada y la solución Holtfreter, tuvieron una tasa de crecimiento mayor en comparación con solución EPA.

Palabras clave: *Ambystoma mexicanum*, manejo, reproducción, morfología, conducta, supervivencia.



INTRODUCCIÓN

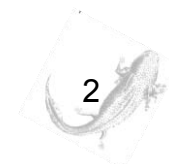
El ajolote *Ambystoma mexicanum* (Shaw & Nodder, 1798), es un anfibio urodelo que pertenece a la familia Ambystomatidae (la cual se caracteriza por habitar en ríos, lagos, corrientes de montaña, charcas y cuevas subterráneas), presenta una cola comprimida lateralmente, cuatro extremidades cortas, cuerpos robustos y largos, que alcanzan una longitud hocico-cloaca que varía de 8 a 55 cm en la etapa adulta (Canseco-Márquez y Gutiérrez-Mayén, 2010; AmphibiaWeb, 2013). Algunas de las características más importantes de los ambystomatidos son que tienen un corazón tricavitario, surcos costales en la piel por encima de las costillas, la fertilización es interna, las hembras tienen espermateca y los machos tienen seis conjuntos de glándulas cloacales (Vitt y Caldwell, 2009).

En el caso del ajolote *A. mexicanum* tiene larvas neoténicas, es decir, alcanza la madurez sexual y puede reproducirse sin perder características morfológicas del estado larvario, a este proceso se le conoce como estado paedomórfico, por lo tanto en esta especie raramente se presenta la metamorfosis (Zippel, 2007).

Distribución

Ambystoma mexicanum es endémico de la cuenca central de México (Griffiths *et al.* 2003) que abarcaba el lago de Texcoco, Xochimilco, Chalco, Zumpango y Xaltocan (Fig. 1). El lago de Xochimilco y Chalco son cuerpos de agua poco profundos con temperaturas de 12 a 16 °C, pH de 6 a 7, alcanzando valores de 9, la salinidad se encuentra en condiciones normales de 0.52 a 0.58 mg/l en promedio (Zambrano *et al.* 2003).

Actualmente en vida libre, el ajolote mexicano se encuentra en los canales de Xochimilco donde el clima es templado sub-húmedo con lluvias en verano (Cw). La altitud a la que se encuentra esta región es de 2,250 msnm, con precipitaciones anuales de 600 mm de mayo a octubre (CONABIO, 2011).



Distribución conocida de *Ambystoma mexicanum*

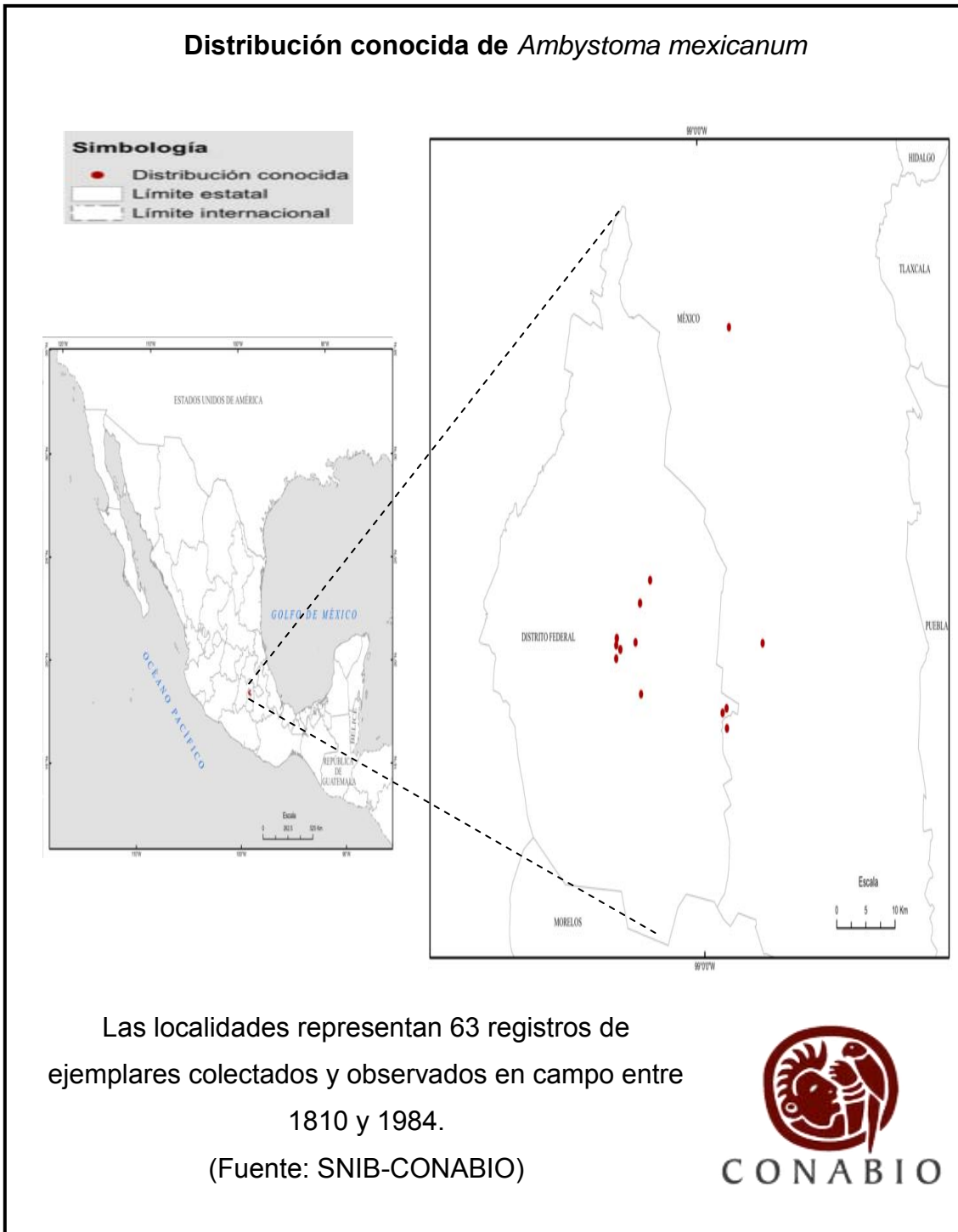
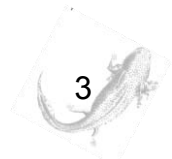


Figura 1. Distribución conocida del ajolote *Ambystoma mexicanum* (CONABIO, 2010)



Ciclo de vida de *A. mexicanum*

La reproducción inicia en los meses de diciembre a febrero, presenta una fertilización interna. La ovoposición de huevos se lleva a cabo dentro del agua y tiene una duración de 18 a 30 horas. La hembra deposita en plantas acuáticas una gran cantidad de huevos. En la figura 2 se muestra el huevo (Etapa 1), el cual se compone del embrión que mide aproximadamente 2 mm de diámetro, y está protegido por una capa de vitelo. En la etapa 2 se representa al embrión antes de la eclosión, su longitud es de aproximadamente 11 mm. Después de 10 a 13 días se presenta la tercera etapa, donde se muestra la larva del ajolote después de la eclosión, esta no presenta extremidades. Después de dos semanas la larva llega a la etapa 4, las patas delanteras se desarrollan primero, y después de unas semanas las patas traseras comienzan a aparecer. En la etapa 5 se puede observar un ajolote joven de aproximadamente 5 cm de longitud total. Aunque los adultos llegan a medir de 25 a 30 cm, alcanzan estas tallas después de 18 meses a 2 años (Clare, 2012).

Las larvas pueden madurar sexualmente a la edad de 1 año en forma neoténica (CONABIO, 2011), la mayoría de estos anfibios permanecen en un medio acuático toda su vida, aunque algunos pueden metamorfosearse debido a la influencia de factores ambientales como temperatura, recursos alimentarios, entre otros o también por la acción de hormonas (Servín, 2011).

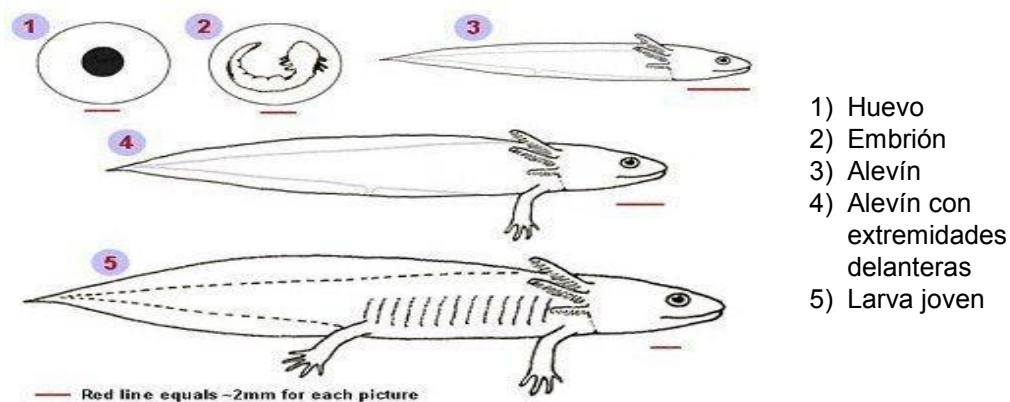


Figura 2. Ciclo de vida del ajolote *Ambystoma mexicanum* (Tomado de John Clare, 2012)

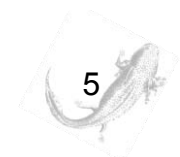
Conducta reproductiva

La reproducción en anfibios depende de diferentes factores tanto condiciones ambientales como funciones endocrinas, así como la conducta que presenta cada organismo. En Ambystomátidos la actividad reproductiva es afectada por las variaciones del ambiente, es decir tienen una actividad estacional, por lo cual los periodos húmedos o secos afectan los patrones conductuales, así como la altitud, la latitud y la temperatura, que son de vital importancia dentro de las actividades de cada especie, por ejemplo, la glándula pineal funciona como receptor del fotoperiodo iniciando la etapa de apareamiento, y en consecuencia desempeña la sincronización de la reproducción (Dorantes *et al.* 2012)

Los patrones de cortejo son un recurso importante para el reconocimiento de las especies, ya que estos muestran una variación interespecifica. En algunas especies los machos han desarrollado caracteres sexuales secundarios como las secreciones hormonales, estas tienen tres funciones durante el cortejo (Hernández, 2001):

1. Identificación de especies y sexo: por secreciones epidérmicas y el depósito del espermátforo o espermátforos.
2. Orientación de fases locomotoras de cortejo: practican una caminata con movimientos de la cola, antes de depositar el espermátforo. En esta caminata los machos elevan la cola exponiendo la papila cloacal y la hembra lo sigue.
3. Persuasión de las hembras (antes de depositar el espermátforo): el macho posee una gran variedad de glándulas epidérmicas las cuales puede utilizar para estimular a la hembra.

Las conductas reproductivas y de comportamiento ayudan a realizar un mejor manejo y reproducción de la especie para su conservación en cautiverio, enfrentando el problema actual sobre la disminución global de las poblaciones de

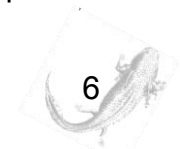


anfibios, que es uno de los síntomas más documentados sobre la pérdida de biodiversidad en nuestro planeta, se encuentran entre las causas principales la infección por hongos (quitridiomicosis), la contaminación y la introducción de especies exóticas al hábitat natural (Carrillo, 2008).

Ambystoma mexicanum está en la categoría de “peligro de extinción” (P) de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2010 (SEMARNAT, 2010), ya que se encuentra en riesgo su viabilidad biológica en todo su hábitat natural. Asimismo la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna (CITES) clasifica al ajolote mexicano *A. mexicanum* en el Apéndice II, que tiene como finalidad controlar el comercio de especies que no están amenazadas de extinción pero que podrían llegar a estarlo a menos de que se controle su comercio, por lo cual estas especies se pueden comercializar internacionalmente con permisos de exportación o certificados de reexportación (CITES, 2013).

Actualmente las poblaciones de *A. mexicanum* han descendido notablemente en seis años, de 6000 a 100 ind / km² (Valiente *et al.* 2013), por lo cual se le cataloga a una tendencia poblacional decreciente (Zambrano *et al.* 2003). Lo anterior debido a factores tales como la alteración del hábitat, contaminación, aprovechamiento no sustentable, introducción especies exóticas como la carpa (*Cyprinus carpio*) y la tilapia (*Oreochromis niloticus*), y enfermedades. Por lo cual es importante conocer su manejo y reproducción, así como el implemento de estrategias para su conservación en cautiverio (Gascon *et al.* 2005; Zambrano *et al.* 2006).

Los Programas de Conservación de Especies en Riesgo (PROCER) son una opción para la conservación de especies, (CONANP, 2013) ya que tratan de revertir los procesos no naturales que causan la desaparición y disminución de especies silvestres de su medio natural (Guillén y Ramírez, 2004). En anfibios, este tipo de programas realizan estudios de la biología reproductiva, que se



vinculan con diferentes áreas: fisiología, morfología y conducta, con el fin de preservar la especie y obtener un número óptimo de descendientes bajo ciertas condiciones ambientales. En México existe el proyecto “Conservación del ajolote (*Ambystoma mexicanum*), mediante su cultivo y siembra en el Parque Ecológico de Xochimilco”, ya que se considera esta área de vital importancia, porque ha sido el hábitat de este organismo desde la época prehispánica (Otto-Parrodi, 1999).

Para mantener en cautiverio al ajolote, se requieren condiciones particulares como turbidez, niveles de oxígeno disuelto y condiciones estables del agua a una temperatura entre 18 a 20 °C (Otto-Parrodi, 1999). Una alimentación constituida a base de peces pequeños, insectos acuáticos, lombrices, crustáceos y moluscos de agua dulce. Cuando se encuentran en estado larvario se alimentan de zooplancton formado por crustáceos, cládoceros (pulgas de agua: *Moina macrocopa*, *Simocephalis vetulus*, *Alona rectangula*, *Macrothrix triserialis*) y rotíferos (*Brachionus* sp.), además para adultos la dieta incluye croquetas (tortuguetas), grillos, tubifex, artemias, tenebrios, charales e hígado (CONABIO, 2011).

El mantener en cautiverio al ajolote ha contribuido a la divulgación y la importancia de esta especie en un aspecto histórico (Fig. 3), donde se muestra la existencia de una estrecha relación entre los mexicas y el ajolote en la época prehispánica, donde se le conocía como axolotl, que significa “monstruo de agua” (Molina, 2010). Durante esta época era un manjar exquisito y nutritivo, también se utilizaba como terapéutico en enfermedades respiratorias (Ortega, 1999). Hoy en día el ajolote se encuentra inmerso en nuestra cultura, como parte de la gastronomía y se ha conservado su uso medicinal, ya que se le atribuye con propiedades curativas para enfermedades respiratorias en ungüento o jarabe (Molina, 2010).

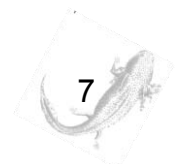




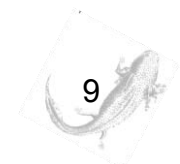
Figura 3. Esquemas de ajolote mexicano *A. mexicanum* (Alexander Von Humboldt y Aimé Bonpland, 1806).

ANTECEDENTES

La primera referencia científica del ajolote aparece en un libro de *Historia Natural*, en 1615. A partir de entonces se han realizado numerosas publicaciones de este animal, y después de 200 años su nombre ha variado a las sinonimias de *Siredon mexicanum* y *Siredon pisciformis*. Para 1804, Alexander Von Humboldt, al descubrir este animal misterioso, realizó algunos esquemas y llevo dos ajolotes para su investigación a Francia por Georges Cuvier, que descubrió la presencia de branquias externas a los lados de la cabeza y destaco su parecido anatómico con la larva de una salamandra. Después, lo clasificó en el reino animal como un perennibranquio (organismo con branquias toda su vida). En 1980 inició a ser estudiado el ajolote por distintas ramas de la biología, desde entonces se le considera como una especie “modelo”. Aunque, la popularidad del ajolote a nivel experimental difiere con lo poco que se sabe de su historia de vida y ecología básica en su hábitat natural.

Ambystoma mexicanum es una especie endémica, que se ha mantenido en cautiverio con el objetivo de realizar diferentes estudios en regeneración (Cano-Martínez *et al.* 2010), biología del desarrollo (Frías-Álvarez *et al.* 2010), conservación (Aguilar *et al.* 2009), conducta (Takeuchi *et al.* 1994), entre otros. También para esta especie se realizan proyectos de investigación en campo en especial de diversidad (Parra-Olea *et al.* 2014), demográficos (Contreras *et al.* 2009), depredación (Brodman y Jaskula, 2002), reproducción (Hernández, 2001) y alimentario (Chaparro, 2007).

En un estudio sobre la biología alimenticia de *Ambystoma mexicanum* durante las primeras semanas de desarrollo, Chaparro (2007), explica que la vulnerabilidad del ajolote en las primeras semanas de desarrollo se le atribuye a la depredación, movilidad restringida y la competencia por el alimento, esta última es de vital importancia para su futuro crecimiento y sobrevivencia.



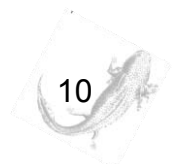
Aguilar y colaboradores, en el 2009, realizaron un estudio sobre aspectos reproductivos en dos especies del género *Ambystoma*, logrando reproducirlas en condiciones de laboratorio de manera natural o por la estimulación hormonal con Gonadotropina Coriónica (hCG).

Robles-Mendoza y colaboradores (2009), realizaron la evaluación del desarrollo y el crecimiento de larvas de *Ambystoma mexicanum* criadas en distintos medios de mantenimiento, con el fin de estandarizar las mejores condiciones para almacenar el germoplasma del ajolote y garantizar organismos sanos con fines de investigación.

En estudios realizados en la ANP “Ejidros de Xochimilco y San Gregorio”, D.F., por Valiente y colaboradores, en el 2013, con el fin de mejorar la conservación del ajolote, consideraron que los resultados de las investigaciones del IBUNAM sobre la contaminación del agua, la introducción de especies exóticas y el cambio del uso del suelo, han llevado a esta especie al borde de la extinción.

En la actualidad se han utilizado también programas cooperativos de reproducción en cautiverio con el fin de minimizar la pérdida de diversidad genética, para esto se emparejan individuos de acuerdo a su valor medio de parentesco (MK), que se ha evaluado por el número y grado de familiares que se tiene en la población, de tal forma que los individuos con la menor medida de parentesco son reproductores prioritarios (Ballou y Lacy, 1995), esto es con el fin minimizar el entrecruzamiento y prevenir la fijación de alelos en sub-poblaciones.

Por lo antes mencionado, se ha considerado contribuir con el conocimiento del mantenimiento y reproducción de *Ambystoma mexicanum* de forma *ex situ*, para tratar la reincorporación de estos anfibios a su hábitat natural.



SISTEMÁTICA DE LA ESPECIE

Ambystoma mexicanum (Shaw and Nodder, 1798)

Reino: Animalia

Phylum: Chordata

Clase: Amphibia

Orden: Caudata

Familia: Ambystomidae

Género: *Ambystoma*

Especie: *Ambystoma mexicanum*

Nombre común: Ajolote, axolotl o monstruo de agua



Figura 4. Ajolote *Ambystoma mexicanum* (Foto: Manuel Casas, G.).

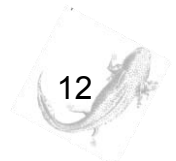
OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Contribuir a la conservación del ajolote mexicano *A. mexicanum*, mediante la aplicación de diversas técnicas para su mantenimiento y reproducción en cautiverio.

OBJETIVOS PARTICULARES

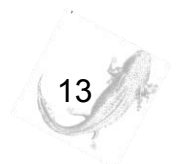
- Adecuar las condiciones óptimas para el mantenimiento de *A. mexicanum* en estado cautivo.
- Describir la morfología, reproducción y conducta de apareamiento del ajolote *A. mexicanum* en cautiverio
- Evaluar si existe relación entre el número y peso de huevos con la longitud hocico cloaca de la hembra.
- Describir las fases del desarrollo embrionario del ajolote mexicano, desde el desove hasta la eclosión.
- Evaluar la supervivencia de puestas hasta la etapa juvenil
- Medir el desarrollo y el crecimiento de larvas del ajolote *A. mexicanum* criadas en tres diferentes medios: agua de grifo filtrada (libre de cloro), EPA y solución Holtfreter.



JUSTIFICACIÓN

Desde el punto de vista ecológico los anfibios reflejan el desequilibrio de factores en el ecosistema, por lo tanto se encuentran en el grupo de las especies que son indicadoras de la calidad del ambiente. Asimismo los programas de recuperación de especies por medio de la reproducción en cautiverio es una solución para frenar la extinción de *Ambystoma mexicanum*.

De tal forma es importante realizar investigaciones que se basan en observar las transiciones entre cada etapa de desarrollo y la biología de la reproducción, con el fin de conservar a esta especie endémica.



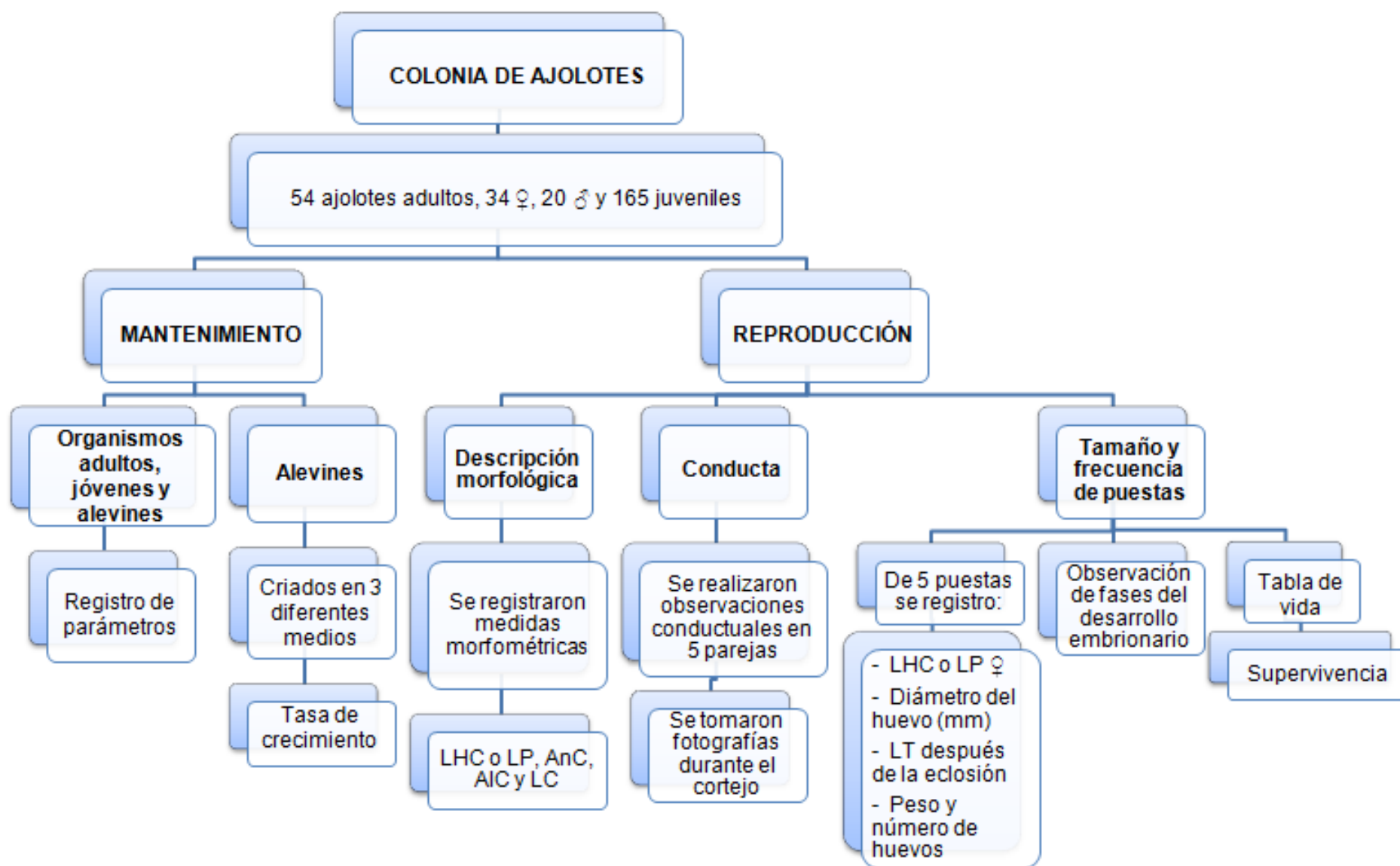


Figura 5. Esquema descriptivo de materiales y métodos

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo con la Colonia de *A. mexicanum* que se encuentra en el Laboratorio de Herpetología “Vivario” de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, la cual cuenta con 54 ajolotes adultos, 34 hembras y 20 machos, y 165 ajolotes jóvenes. Esta colonia se ha manejado desde 1998, inició con 10 ajolotes donados de Xochimilco, y que se han reproducido exitosamente hasta nuestros días.

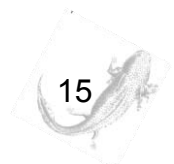
MANTENIMIENTO

En la colonia se realizó el mantenimiento con agua de grifo la cual se dejó reposar por 24 horas para remover el cloro, el pH del agua oscilo entre los 6.5 – 8. Asimismo existen medidas de bioseguridad para el mantenimiento en cautiverio del ajolote (Anexo 1).

Organismos adultos y juveniles

Los ajolotes adultos y juveniles se mantuvieron alojados de forma individual en contenedores de plástico (20 x 30 cm), con aproximadamente 4 litros de agua con un rango de temperatura de 18-20°C (Nugas y Bryant, 1996), y un fotoperiodo 12 luz/12 oscuridad.

Cuando se presentaban síntomas de alguna enfermedad en los ajolotes, se les proporcionó sal de acuario, solución Holtfreter o EPA, esto también se hizo para prevenir o evitar la presencia hongos y bacterias. El material que fue utilizado para el cambio de los ajolotes, periódicamente fue desinfectado con cloro, manteniéndolo en una solución al 7% por 24 horas, posteriormente se enjuagaron y se dejaron secar.



Alimentación para adultos y juveniles

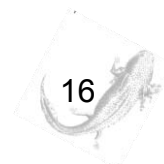
La dieta del ajolote en su hábitat natural es muy variada, desde pequeños crustáceos hasta peces, por lo cual son considerados como carnívoros estrictos (Mena-González y Servín-Zamora, 2014). En cautiverio generalmente se les ofreció una dieta variada tres veces a la semana, conformada por grillos (*Acheta domesticus*) (Ver Anexo 2), lombrices (*Eisenia foetida*) (Ver Anexo 3), hígado de pollo o res, tortuguetas (PETMMAL), tenebrios (*Tenebrio molitor*), cucarachas lobster (*Nauphoeta cinerea*) y charales (*Chirostoma sp.*) (Tabla 1).

Tabla 1. Calendario de alimentación para *Ambystoma mexicanum*, implementado en la colonia de ajolotes

Semana	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes
1	Grillos	Revisión	Peces	Revisión	Cucarachas
2	Grillos	Revisión	Lombrices	Revisión	Cucarachas
3	Hígado	Revisión	Peces	Revisión	Tenebrios
4	Peces	Revisión	Lombrices	Revisión	Cucarachas
5	Grillos	Revisión	Grillos	Revisión	Tenebrios

Mantenimiento de alevines:

Las puestas se mantuvieron en peceras de vidrio de 20 L, con aeración permanente. Después de la eclosión (~ 2 semanas) se formaron grupos de 50 ajolotes en estado larvario, los cuales requirieron de una temperatura de 16-18 °C (Nugas y Bryant, 1996). En una etapa juvenil se separaron de forma individual para su mejor desarrollo (Gresens, 2004). Como parte de la rutina de limpieza diariamente se extrajeron restos de alimento, utilizando una red o una manguera para sifonear las peceras.



Alimentación para alevines:

El alimento para los alevines se conformó por crustáceos como pulga de agua (*Daphnia* sp.) o anélidos (*Tubifex rivolorum*) (Fig. 6). El alimento que se les proporciono varió de acuerdo al estadio que presentaban, al pasar a una talla mayor de 2 cm de longitud total se alimentaron con tubifex o grillos de 5 mm. Para la realización de este trabajo se utilizaron los criterios de la Universidad de Indiana para diferenciar entre crías y jóvenes, donde se considera una talla de 2 a 5 cm para crías y para juveniles de 5 a 8 cm (Duhon, 1994).

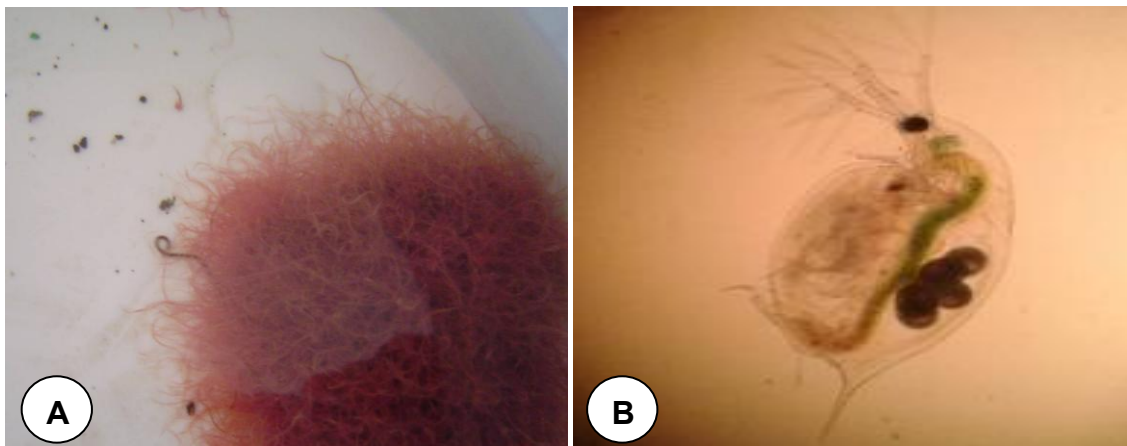


Figura 6. Alimento de alevines A) *Tubifex rivolorum* y B) *Daphnia* sp.

Registro de parámetros para el análisis del agua

Se tomó un registro de temperatura (máximas y mínimas), pH y el amonio se midió semanalmente de forma aleatoria en solo los organismos adultos de la colonia (Robles-Mendoza *et al.* 2009) con un Kit de análisis de amonio para agua dulce (0.0 - 7.3mg /L (ppm) NH_3) de NUTRAFIN TEST. Tanto alevines, jóvenes y reproductores se mantuvieron con las condiciones óptimas de temperatura y calidad del agua para la especie (Tabla 2).

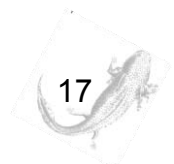


Tabla 2. Caracterización fisicoquímica del agua para el mantenimiento del *A. mexicanum* (Servín, 2011)

Parámetro	Valor ideal
pH	6.5 – 8
Cloro	0 mg/l
Dureza general (GH)	6 - 16 °dh
Dureza carbono (KH)	3 - 10 °dh
Nitritos (NO ²⁻)	>3 mg/l
Amonio	0% ó 0 mg/l
Densidad	1.000
Concentración CO ₂	<5 mg/l
O ₂ disuelto	>80% de saturación
Temperatura	15 – 18 °C

DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA

Los organismos fueron sexados, basándose por el dimorfismo sexual expresado en el abultamiento de la región de la cloaca (Aguilar *et al.* 2009) (Fig.7)

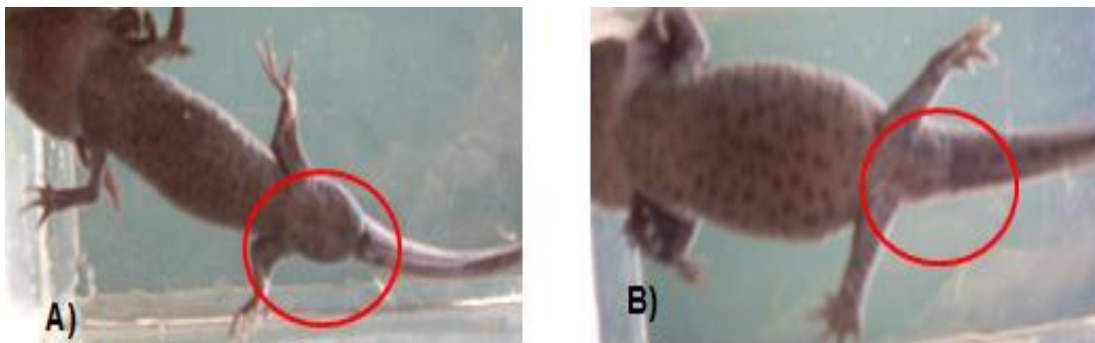


Figura 7. Dimorfismo sexual en *A. mexicanum* (Vista ventral) **A)** El macho presenta un abultamiento en la zona de la cloaca **B)** La hembra es robusta y la zona cloacal es plana

Posteriormente se realizó un registro de medidas morfométricas de 40 organismos (N=40, 20 machos y 20 hembras no preñadas) mayores a 1 año de edad: longitud total (LT), longitud hocico cloaca (LHC), ancho cabeza (AnC), alto cabeza (AIC), largo cabeza (LC) en mm (Fig. 8) y peso (g). En hembras se tomó medida de la anchura ventral. Para realizar el análisis morfométrico a cada organismo se le



tomó una fotografía digital sobre papel milimétrico, estas fotos se calibraron en el Software Image Tool ver. 3.0 (± 0.1 mm), para tomar las medidas corporales y de la cabeza. Se obtuvieron sus pesos con una báscula electrónica (± 0.1 g).

La longitud total se tomó desde el extremo de la cola hasta el extremo de la cabeza, la longitud hocico cloaca, se midió desde el extremo de la cabeza hasta la cloaca y la anchura ventral, solo se registró para hembras en la parte media del abdomen.

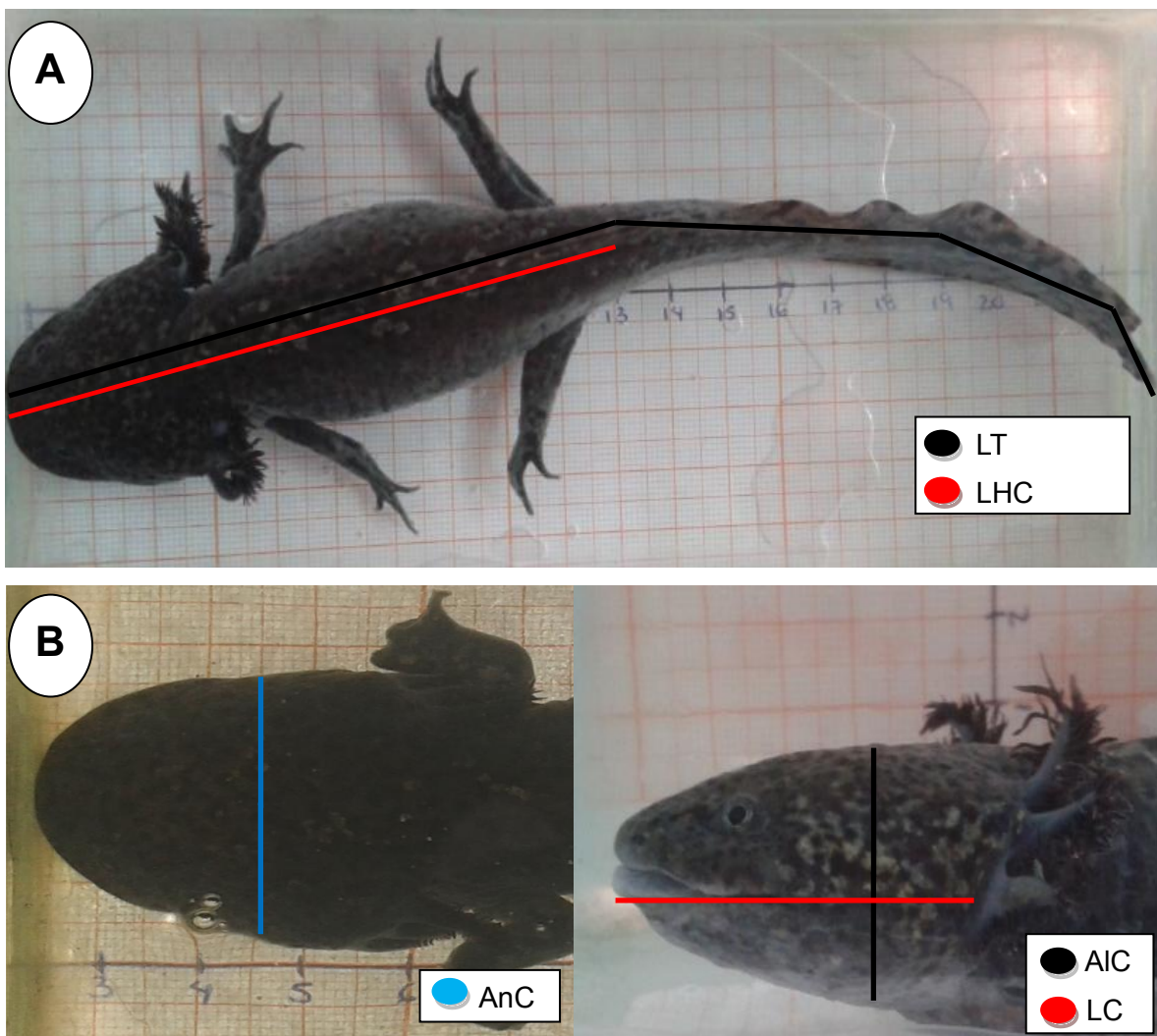


Figura 8. Esquema representativo con medidas morfométricas. A) Medidas morfométricas del cuerpo B) Medidas morfométricas de la cabeza en mm.

REPRODUCCIÓN

Para su reproducción los organismos de *Ambystoma mexicanum* se mantuvieron aislados machos de hembras en estado paedomórfico, a lo largo de un año se realizó la selección de reproductores, tomando en cuenta características cualitativas o merísticas, como son las morfologías, ausencia de enfermedades visibles y la coloración.

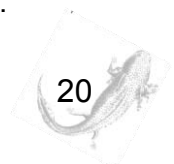
Conducta reproductiva

Se juntaron 5 parejas para observar la conducta reproductiva, en *A. mexicanum*. Las parejas elegidas se colocaron en acuarios adecuados con piedras de río y rafia plástica, como sustrato para la ovoposición (Fig. 9). Se registraron las conductas observadas en hembras y machos, asimismo se tomaron fotografías, durante el cortejo de esta especie.

Se tomó la temperatura del agua de cada contenedor, y se mantuvieron con un fotoperiodo de 24 horas de oscuridad, durante una semana. Asimismo se comparó la LHC con el número y el peso de huevos, de 5 puestas obtenidas del laboratorio de Herpetología “Vivario”.



Figura 9. Parejas colocadas en acuarios con piedras de río y rafia plástica.



Después de la ovoposición, se aislaron los huevos en peceras de 20 L. con parámetros específicos: agua de grifo filtrada y reposada durante 24 horas (dechlorada), permanente oxigenación y temperatura del agua de 16-18 °C (Fig. 10), y se realizó una evaluación en 5 puestas, tomando el diámetro (mm) de 30 huevos de cada puesta, tratando de manipularlos lo menos posible, después de la eclosión se registró la talla (LT) de los alevines.



Figura 10. Mantenimiento de huevos y alevines, A) Huevos después de la ovoposición y B) después de la eclosión

OBSERVACIÓN DE FASES DEL DESARROLLO EMBRIONARIO

Se realizaron observaciones en el microscopio durante el desarrollo embrionario, y se tomaron fotografías cada 24 horas, con una cámara moticam 2000, de 2.0 megapíxeles.

TABLA DE VIDA

De las 13 puestas que se obtuvieron se elaboró una tabla de vida (Ver Anexo 4), con los siguientes registros; estableciendo el tamaño de la puesta con el número de huevos, el número de huevos infértiles (aquellos que no muestren un desarrollo embrionario, lo que se evidencia por una coloración blanquecina en el polo animal o la presencia de hongo), el porcentaje de fertilidad, el cual fue determinado por los huevos que se encontraron en segmentación como evidencia del inicio del desarrollo (Aguilar *et al.* 2009), y el porcentaje de supervivencia (Maya, 2006) se calculó de la siguiente manera:

$$PS = \frac{NC}{NCE} (100)$$

Donde:

NC = Número de crías (a una edad de 5 meses)

NCE = Número de crías eclosionadas

SUPERVIVENCIA

Durante 12 meses se monitoreo la supervivencia de 5 puestas que se obtuvieron en diciembre y febrero, las larvas después de la eclosión se mantuvieron sin cambios de agua durante los primeros 7 días, para evitar estrés y muerte por inadaptación al medio, asimismo se les mantuvo con condiciones óptimas para la especie, descritas anteriormente. Al cumplir cuatro meses después de la eclosión, los ajolotes jóvenes se colocaron en contenedores individuales con 4 L de agua reposada, con la finalidad de evitar el hacinamiento.



MANTENIMIENTO CON DIFERENTES SOLUCIONES

Las soluciones que se utilizaron para el mantenimiento del *A. mexicanum* fueron las siguientes:

- 1) Agua de grifo filtrada (libre de cloro)
- 2) Solución Holtfreter (solución elaborada para 126 L: KCL 9.20 g., $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 17.16 g., $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 35.6 g. y NaCl 506.88 g.)
- 3) EPA (solución elaborada para 20 L: NaHCO_3 1.9 g., CaSO_4 1.2 g., MgSO_4 1.2 g. y KSO_4 0.04 g.).

Para cada grupo experimental se utilizaron 15 huevos de ajolotes (etapa 8, blástula), los cuales se colocaron en contenedores individuales con 4 L. de cada solución. El experimento se llevó a cabo con tres repeticiones, durante un periodo de 6 semanas, donde se registraron temperatura, pH y amonio.

Una vez a la semana se cambió una tercera parte del volumen del agua de los contenedores sustituyéndolo con la solución experimental. Después de la eclosión, se registró semanalmente el crecimiento, con la longitud total (LT) de cada individuo y la mortalidad. De los datos obtenidos se evaluó la tasa de crecimiento a través de la ecuación (Busacker *et al.* 1990):

$$GR = \frac{Wf - Wi}{t}$$

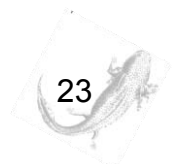
Donde:

Wf = longitud total final

Wi = longitud total inicial

t = tiempo (número de días que transcurrieron entre las dos mediciones)

Posteriormente se aplicó una prueba ANOVA para analizar si existen diferencias de crecimiento entre las muestras.



RESULTADOS

Durante el tiempo que se llevó a cabo el mantenimiento de los organismos de la colonia, las condiciones adecuadas de su manejo comprendieron una temperatura del agua entre los 12–18 °C. La temperatura ambiental (TA mínima y TA máxima) aumento durante los meses de febrero y marzo (Fig. 11). La temperatura promedio del agua fue de 16 °C con un pH de 7.0 a 7.7 (ligeramente alcalino) y las cantidades de amonio se mantuvieron de 0 a 2.4 mg/l.

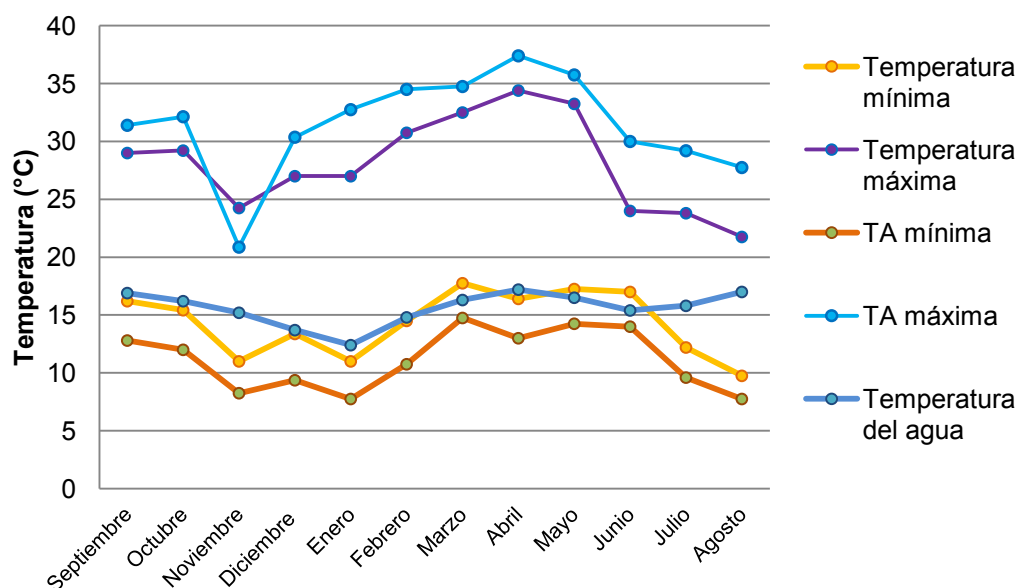


Figura 11. Fluctuación de temperaturas máximas y mínimas (ambientales y del laboratorio) en la colonia de ajolotes de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala

Registro de parámetros para el análisis del agua

Las características del agua para el mantenimiento de *A. mexicanum* se aprecian en la tabla 3.

Tabla 3. Caracterización fisicoquímica del agua para el mantenimiento del *A. mexicanum*

Pruebas	Muestra	Criterios
DBO ₅ en mg/L	<2	DBO ₅ ≤3 mg/L (CONAGUA, 2013)
Dureza total en mg/L como CaCO ₃	117	101-202 moderadamente dura (Wheaton, 1982)
Sólidos disueltos totales mg/L	340	>300 Contaminados (CONAGUA, 2013).
Cloro libre residual en mg/L	0.04	0 mg/l (Servín, 2011)



DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA

El ANCOVA para evaluar las medidas morfométricas en machos y hembras, no mostró diferencias significativas de AIC, LC (Fig. 12) pero si en LT ($n=40$, $r^2 = 0.21$, $p<0.05$) y AnC ($n=40$, $r^2 = 0.12$, $p<0.05$), entre de hembras y machos (Fig. 11), de tal forma que al comparar las medidas morfométricas de ambos sexos, el macho presentó una cabeza más ancha. Con respecto al peso las hembras mostraron un peso promedio de 67.1 g, mientras que los machos tuvieron un peso promedio de 64.57 g.

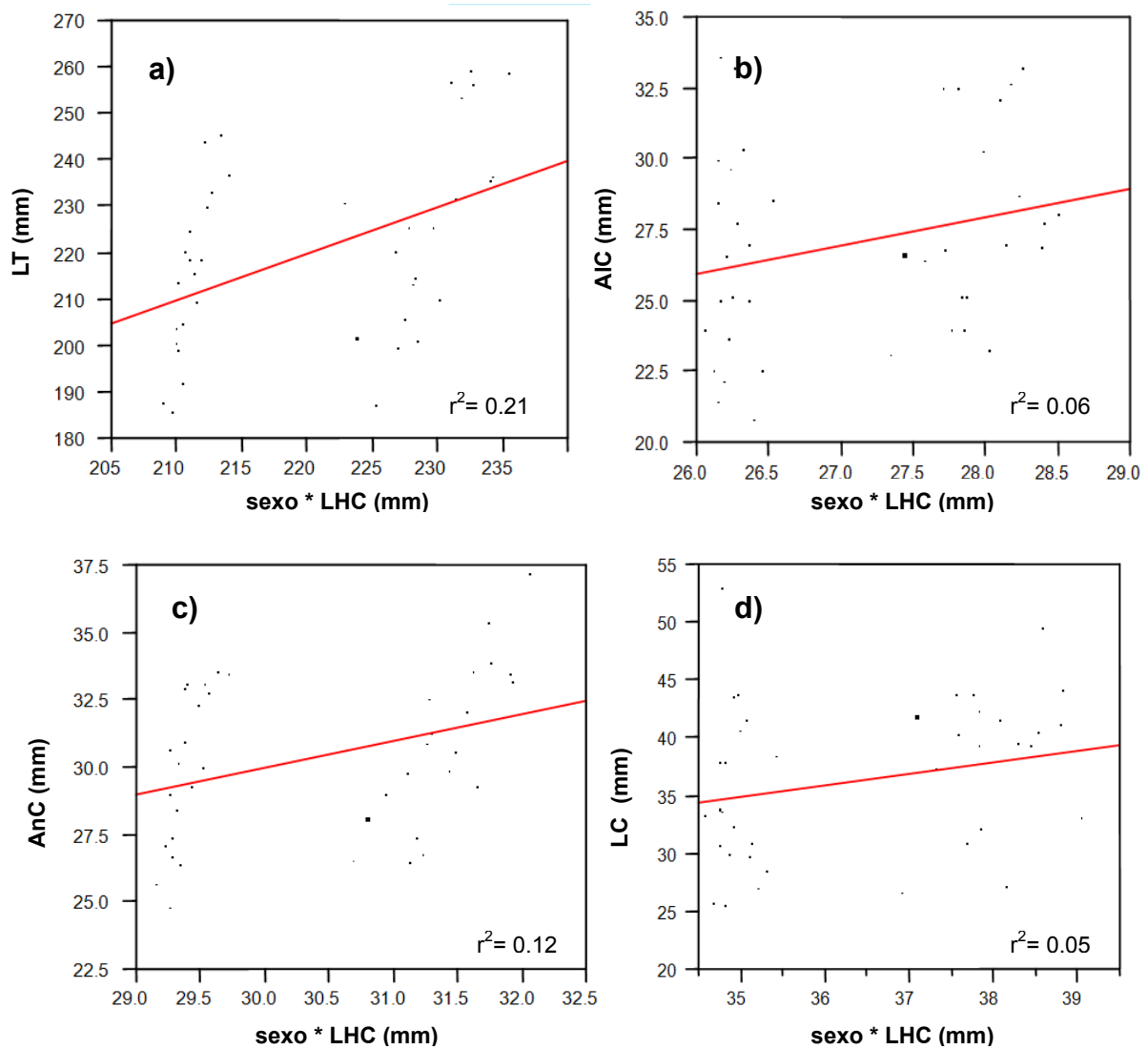
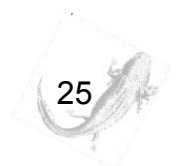


Figura 12. Relación de LHC y sexo con a) LT, b) AIC, c) AnC, d) LC de una muestra de *A. mexicanum* que componen a la colonia de la FES Iztacala.



REPRODUCCIÓN

Conducta reproductiva en *A. mexicanum*

En las peceras de los ajolotes se registró una temperatura del agua entre los 16 a 18°C, y observándose las siguientes conductas (Ver tabla 4).

Tabla 4. Conducta reproductiva de 5 parejas observadas en la colonia de ajolotes






Imagen	Conducta reproductiva
	La hembra se acerca al macho, presentando una conducta de aceptación. En Ambystomatidos la liberación de secreciones por el macho, hace que la hembra se acerque a las patas traseras y a las glándulas cloacales (Duellman y Trueb, 1986).
	El macho nada alrededor de la hembra y eleva su cola exponiendo la papila cloacal.
	Antes de depositar el espermatofito, el macho nada alrededor de la hembra. En el contenedor se encontraron 11 espermatóforos, después de dos horas de observar el cortejo (Fig. 13).
	La hembra se acerca al macho y por unos minutos se queda detrás del macho.
	El macho realiza movimientos ondulatorios con la cola, para atraer a la hembra.





Figura 13. Espermátóforo de ajolote (*A. mexicanum*), el cono gelatinoso sirve para adherirlo al sustrato, y la sustancia blanca que se encuentra en la parte superior es donde se encuentran los espermatozoides.

La ovoposición de huevos tuvo una duración de 24 a 48 horas, durante este lapso, hembra depositaba en la rafia los huevos fecundados como se muestra en la siguiente figura.



Figura 14. Hembra *A. mexicanum* ovopositando huevos

Relación de la talla de las hembras y tamaño de puestas

Como se muestra en la tabla, las hembras obtuvieron puestas variables de 505 a 623 huevos, asimismo su desarrollo embrionario varió entre 15 y 21 días (Tabla 5).

Tabla 5. Comparación morfológica de hembras con respecto al tamaño de las puestas

# de Hembra	LHC	Pérdida de peso (g)	Días de desarrollo embrionario	# de huevos	# de huevos infértiles	Peso de huevos (g)
45	240.7	18	21	623	1	206
17	252.9	11	19	584	1	190
39	224.1	10	15	505	92	246
37	233.3	8	19	395	7	84
43	224.7	14	16	218	6	178

Se obtuvo una correlación positiva ($N=5$, $r^2=0.44$, $p<0.05$) (Fig. 15), donde número de huevos que ovoposita aumenta simultáneamente con respecto a la LHC de la hembra. Por otra parte el peso no muestra una correlación ($N=5$, $r^2=0.0052$, $p>0.05$) con la LHC (Fig.16).

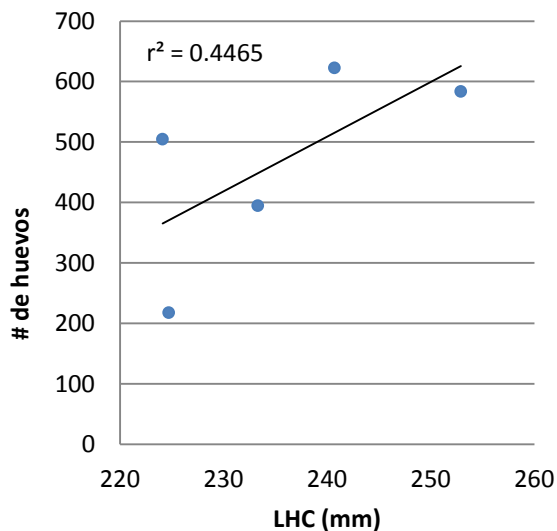


Figura 15. Correlación entre la LHC de hembras y el número de huevos

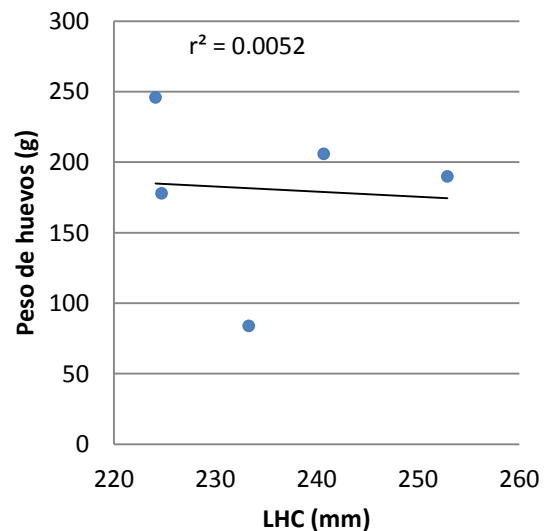


Figura 16. Correlación entre la LHC de hembras y el peso de huevos

DIÁMETRO DE HUEVOS Y LT DE ALEVINES

De las puestas evaluadas se registró para *A. mexicanum* un diámetro promedio del huevo de 5.68 mm, y al eclosionar presentaron tallas de 9 a 17.5 mm. De tal modo que el diámetro no muestra correlación con la talla total (N=150, $r^2=0.0059$, $p>0.05$) (Fig.17), el diámetro de los huevos es independiente a la LT que presentan después de la eclosión.

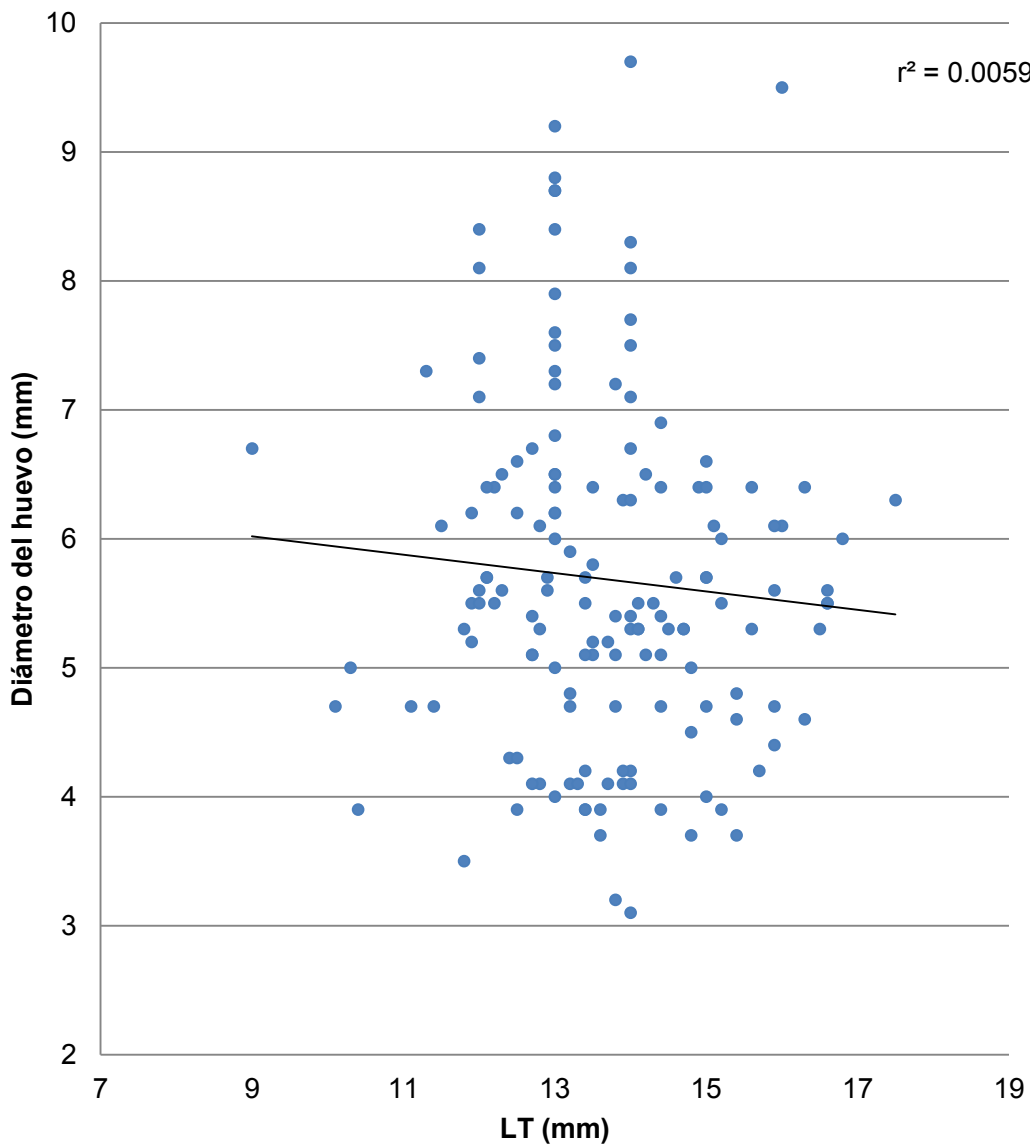
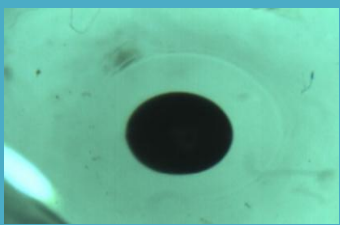
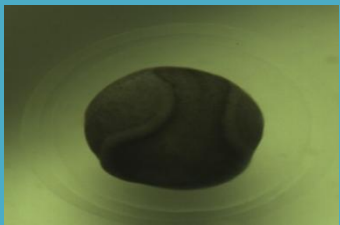
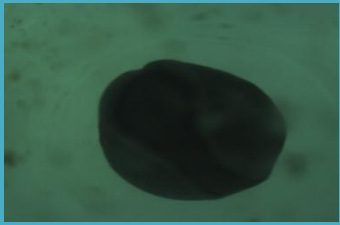
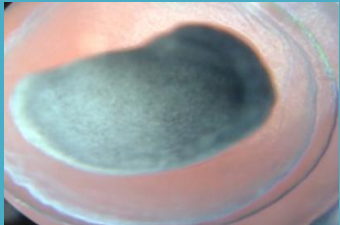


Figura 17. Correlación entre la LT de alevines y el diámetro del huevo (mm)

OBSERVACIÓN DE FASES DEL DESARROLLO EMBRIONARIO

Una de las características principales de los huevos en anfibios es que son transparentes y se puede observar con claridad su desarrollo embrionario. Para esta puesta se registró una temperatura que oscilo entre los 17 a 19 °C, con un fotoperiodo de 12 luz/12 oscuridad, y presentó un desarrollo embrionario de 360 horas (Tabla 6).

Tabla 6. Descripción del desarrollo embrionario (0 a 72 horas)

Imagen	Tiempo y etapa	Descripción
	0 horas Etapa 1	Huevo después de ovoposición El huevo está cubierto por una capa gelatinosa llamada vitelo.
	24 horas Etapa 15	Neurula temprana III La placa neural es amplia, los pliegues neurales se acercan.
	48 horas Etapa 16	Neurula media Se puede ver a los pliegues neurales antes de fusionarse.
	72 Horas Etapa 21	Pliegues neurales están completamente fusionados. La región branquial se comienza a distinguir, y la parte ventral del embrión muestra un abultamiento cóncavo.

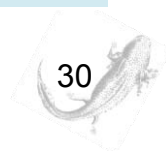


Tabla 6. Continuación. Descripción del desarrollo embrionario (96 a 216 horas)






Imagen	Tiempo y etapa	Descripción
	<p>96 horas Etapas 21</p>	<p>Formación temprana de la cola</p> <p>La parte ventral del embrión es más cóncavo y la curvatura de la cabeza aumenta.</p>
	<p>120 horas Etapas 29</p>	<p>El cuerpo del embrión se alarga y alcanza la máxima curvatura de la cabeza la cabeza.</p>
	<p>144 horas Etapa 31</p>	<p>La fosa olfatoria se perfila claramente frente al ojo.</p>
	<p>168 horas Etapa 35</p>	<p>Formación intermedia de la cola.</p> <p>El cuerpo del embrión comienza a tomar una forma recta y la curvatura de la cabeza es menor.</p>
	<p>216 horas Etapa 36</p>	<p>En la región cefálica presenta tres nódulos branquiales, y aparecen los primeros cromatóforos.</p>

Tabla 6. Continuación. Descripción del desarrollo embrionario (240 a 360 horas)


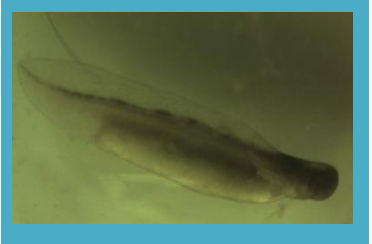
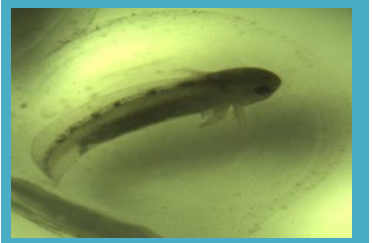


Imagen	Tiempo y etapa	Descripción
	240 horas Etapa 37	Se pueden observar las branquias externas más largas.
	264 horas Etapa 39	Las branquias presentan brotes de filamentos.
	288 horas Etapa 40	Las branquias son más largas, el número de filamentos incrementa. Las yemas de las extremidades anteriores son aún pequeños.
	312 horas Etapa 42	Las branquias se extienden mucho más allá de las yemas de las extremidades anteriores. La boca está formada completamente.
	336 horas Etapa 43	La boca está abierta.
	360 horas	Alevín, después de la eclosión.



TABLA DE VIDA (supervivencia de puestas hasta la etapa juvenil)

En el 2014 se obtuvieron y evaluaron 13 puestas con tamaños promedio de 426 huevos, y un promedio de 58 huevos infértiles, con una fertilidad del 87.17% y una supervivencia del 3.74%.

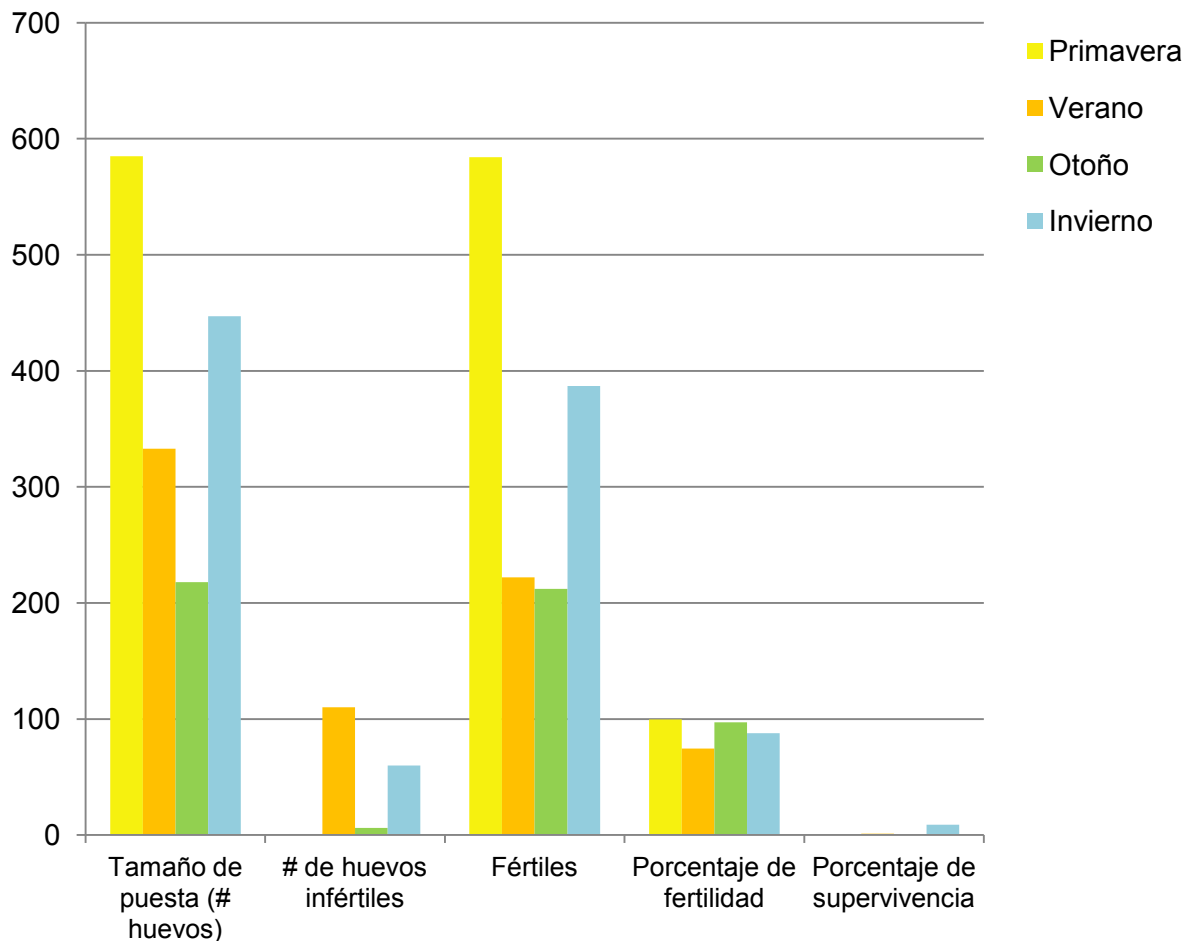


Figura 18. Características del desarrollo de las puestas en el transcurso de un año, en la colonia de ajolotes de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

La época del año con mayor tamaño de puesta y mayor porcentaje de fertilidad fue durante la primavera, en verano se obtuvo un mayor número de huevos infértiles, y las puestas de invierno presentaron un 8.74% de supervivencia.

Supervivencia

Las dos puestas de diciembre, presentaron en el primer mes una alta mortalidad, y se estabilizó durante los siguientes 4 meses, esta puesta obtuvo un 20.68% de supervivencia (Fig. 19). Mientras que las 3 puestas de febrero, la supervivencia se estabilizó en el cuarto mes y presentó un 5.84% de supervivencia (Fig. 20).

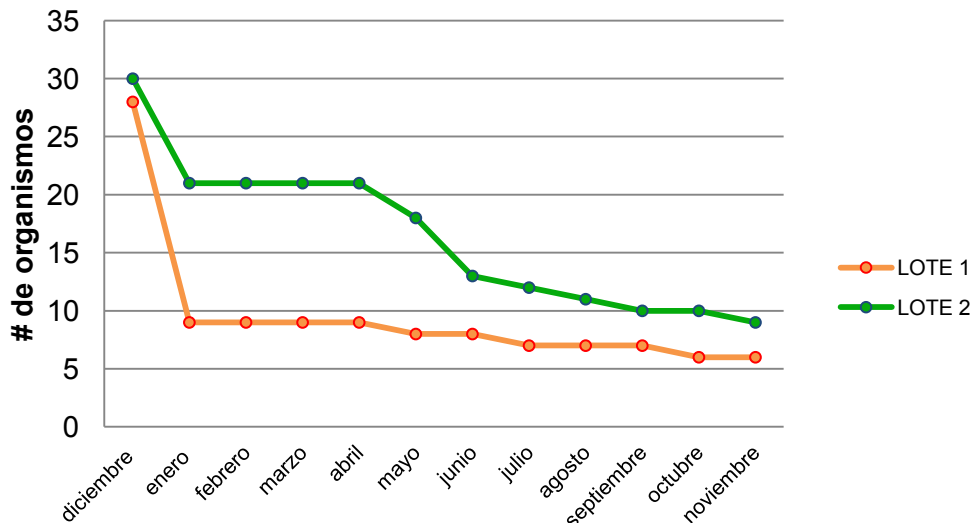


Figura 19. Supervivencia puestas del mes de diciembre de *A. mexicanum* durante el primer año de vida.

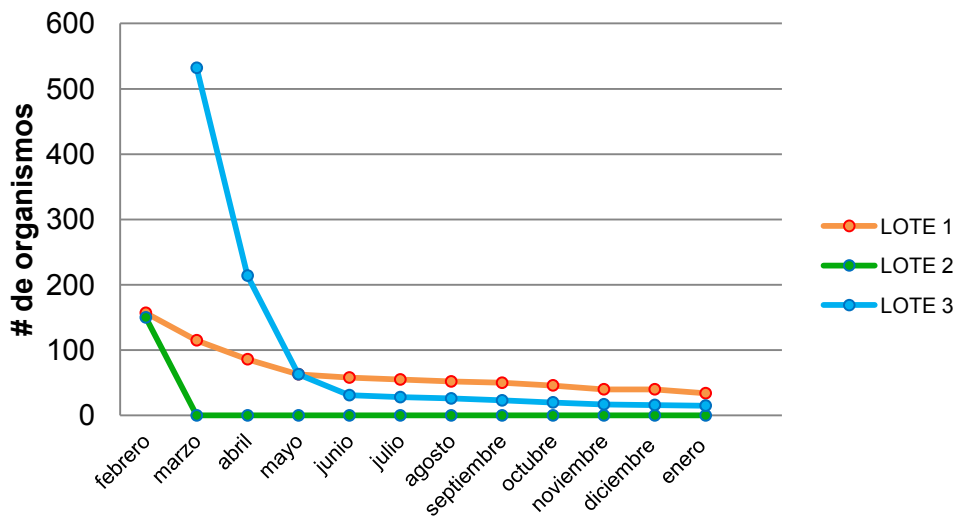
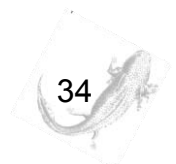


Figura 20. Supervivencia puestas del mes de febrero de *A. mexicanum* durante el primer año de vida.



MANTENIMIENTO CON DIFERENTES SOLUCIONES

En el experimento se registró una temperatura entre los 16 a los 18°C, un pH promedio de 7.2 y las cantidades de amonio se mantuvieron entre 0 y 0.2 mg/l.

Tabla 7. Fluctuación de la temperatura, pH y amonio en los diferentes tratamientos

Parámetros	Tratamiento	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6
Temperatura	Agua/HS/EPA	17	16	16	17	18	18
pH	Agua	7.2	7.3	7.4	7.3	7.4	7.3
	HS	7.2	7.3	7.3	7.3	7.2	7.2
	EPA	7.2	7.2	7.3	7.3	7.2	7.2
Amonio	Agua	0	0	0.03	0.1	0.06	0
	HS	0.03	0	0	0.03	0.06	0.06
	EPA	0.03	0	0.03	0.06	0	0.06

El ANOVA que se realizó para el crecimiento de alevines de *A. mexicanum* criados en tres medios, mostró diferencias significativas (N=15, F=7.40, p<0.05). Posteriormente se efectuaron pruebas t-Student, donde se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento de EPA con el agua de grifo (N=15, t-Student = 5.37; p=0.00009) y la solución Holtfreter (N=15, t-Student = 4.28; p=0.0007). En la figura 21 se puede observar el crecimiento promedio de los tres tratamientos, siendo significativamente menor en la solución EPA.

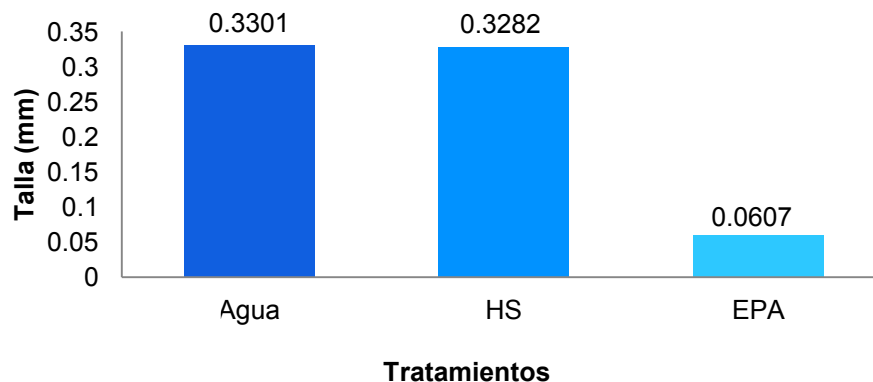


Figura 21. Crecimiento promedio de LT (mm) de *A. mexicanum* criadas en Agua de grifo de clorada, solución Holtfreter y EPA.



Las tasas de crecimiento en agua de grifo de clorada y la solución Holtfreter, presentaron un similar incremento en la talla de los alevines en las primeras 4 semanas, posteriormente el crecimiento disminuye en la quinta y sexta semana (Fig. 22). Al finalizar las pruebas, la mortalidad de los organismos fue mayor en el tratamiento con EPA, ya que presentó una mortalidad del 53%, mientras que el porcentaje de mortalidad en el agua de grifo fue de un 13 %, y para la solución Holtfreter se registró un 7 % (Fig. 23).

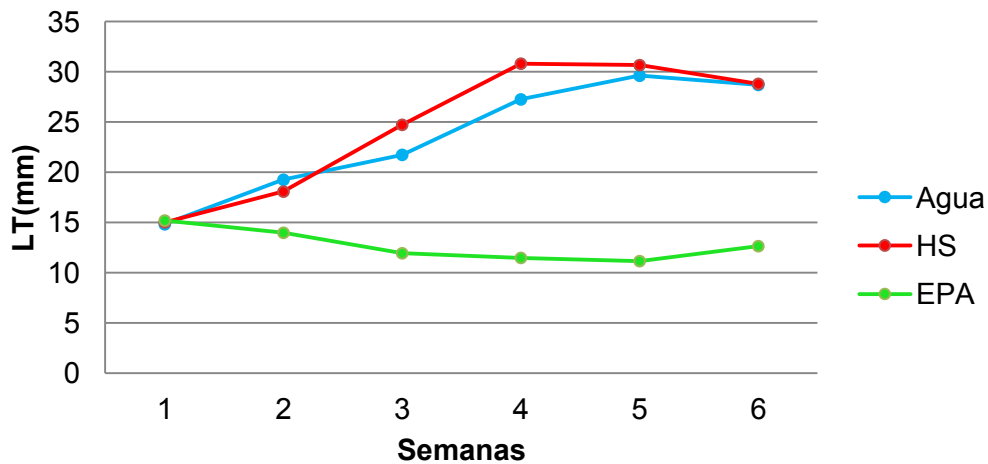


Figura 22. Tasas de crecimiento de alevines *A. mexicanum* criados en agua de grifo de clorada, solución Holtfreter y EPA

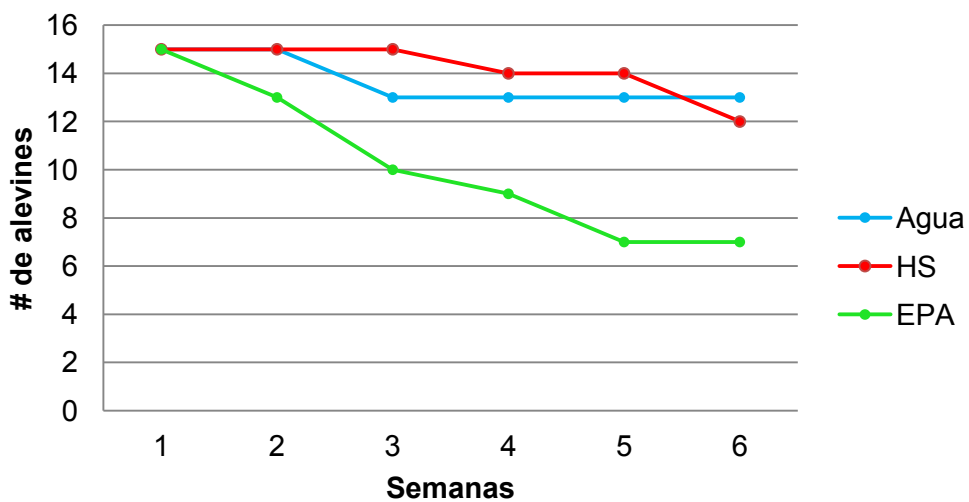


Figura 23. Mortalidad de alevines *A. mexicanum* criados en agua de grifo de clorada, solución Holtfreter y EPA

DISCUSIÓN

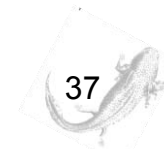
En la colonia se presentó una temperatura ambiental de los 9 a los 34 °C, la temperatura de los contenedores oscilo entre los 12 a 18 °C, con un pH de 7.0 a 7.7, estos parámetros se encuentran dentro de los recomendados para el mantenimiento de estos organismos en estado cautivo (Servín, 2011). El pH incremento, por los procesos del microsistema como: los productos de excreción nitrogenados y la degradación de la materia orgánica de los residuos del alimento (Otto-Parrodi, 1999). Asimismo se ha reportado que *A. mexicanum* habita en aguas bien oxigenadas en donde la temperatura se encuentra entre los 14°C a 18°C. Las temperaturas superiores a los 26°C les provocan estrés, disminución de defensas inmunitarias y aumenta la probabilidad de enfermedades e infecciones (Biasutti, 2006).

Registro de parámetros para el análisis del agua

La Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5) del agua utilizada para el mantenimiento de los ajolotes de este proyecto se clasificó como excelente, sin características de contaminantes. Según los criterios de Wheaton, 1982, el agua se caracteriza como moderadamente dura (Gama *et al.* 2010). Aunque por la cantidad de sólidos disueltos totales de 340 mg/L se considera contaminada, porque se presentan en una alta concentración, estos sólidos son descompuestos por microorganismos que utilizan el oxígeno para respirar, por lo cual al presentarse una mayor cantidad de materia orgánica, mayor es el número de organismos y mayor el consumo de oxígeno. La falta de oxígeno puede ser una causa principal de muerte de algunos organismos acuáticos (CONAGUA, 2013).

DESCRIPCION MORFOLÓGICA

El ANCOVA, mostró diferencias significativas en LT y AnC, de los machos con respecto a las hembras, la característica de que los machos presenten una cabeza

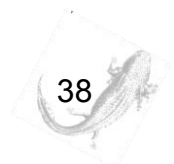


más ancha, es posiblemente a que pueden tener más capacidad para agredir a otros machos, y competir por la adquisición de una pareja, debido a que las hembras invierten más recursos que los machos en cada cría, el cortejo y el comportamiento copulatorio del macho está dirigido en gran medida a la competencia por la hembra (Krebs y Davies, 1993), asimismo se infiere que el tamaño de la cabeza en machos también está ligado a la caza de presas de gran tamaño con relación a la de su cuerpo (Reques y Salvador, 2014).

En especies como *A. granulatum* y *A. lermaense* se ha observado también una ligera tendencia hacia el mayor tamaño y peso de los machos (Aguilar *et al.* 2009). Para *Ambystoma altamirani*, se ha reportado que los machos son más grandes que las hembras, ya que poseen una cola más larga (CONANP, 2009). Aunque en hembras se presentó un peso mayor al de los machos, lo anterior, por la posible acumulación de ovocitos vitelogénicos (CONABIO, 2011; Aguilar *et al.* 2009; Duellman y Trueb, 1986).

REPRODUCCIÓN

A. mexicanum es una especie que requiere de condiciones específicas para su reproducción en especial la temperatura del agua, la cual debe de oscilar entre 12 a 18 °C (Servín, 2011) y es un factor importante en especies acuáticas (Duellman y Trueb, 1986). Es posible que por este motivo, la colonia al contar con las condiciones necesarias se presente un incremento en el número de huevos y de crías eclosionadas, así como en un alto porcentaje en la fertilidad, por lo que el conocimiento sobre la reproducción de *A. mexicanum* en condiciones fuera de su hábitat natural, es relevante para planear estrategias que permitan utilizarla no solo como un modelo biológico en investigaciones, sino también para contribuir con la reintroducción a su hábitat natural.

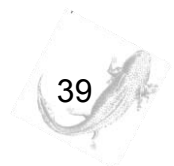


Conducta reproductiva en *A. mexicanum*

Los patrones de cortejo son un recurso importante para el reconocimiento de las especies. En el género *Ambystoma*, el cortejo se inicia cuando el macho empuja la cabeza de la hembra con su hocico. En *A. mexicanum* el macho generalmente comienza a nadar alrededor de la hembra y realiza movimientos ondulatorios con la cola para atraer a la hembra (Duellman y Trueb, 1986), este comportamiento se observó en 2 parejas de la colonia. Dentro de los caudados, las salamandras, ambystomátidos y *Proteus*, se ha observado que los machos tocan la epidermis de la hembra antes de depositar el espermátforo, esto para realizar un reconocimiento de especies y sexo, así como la ejecución de una caminata (Hernández, 2001), la cual se lleva a cabo con movimientos ondulatorios, se ha registrado en *A. mexicanum*, *A. tigrinum*, *A. dumerili* y *A. laterale*, y prolongan el tiempo entre el depósito de cada espermátforo (Duellman y Trueb, 1986).

En otras 2 parejas se encontró un comportamiento donde la hembra permanece detrás del macho y expone la papila cloacal, ya que la liberación de sustancias desencadenan comportamientos, por este motivo la hembra se acerca a las patas traseras y toca continuamente la papila cloacal del macho. Después de esta serie actividades, el macho frota su cloaca en la superficie y expulsa un saco de esperma (espermátforo) que cae al fondo para que la hembra lo recoja con los labios cloacales (Servín, 2011).

En *A. mexicanum*, *A. opacum* y *A. talpoideum*, los machos depositan varios espermátforos y repiten el cortejo varias veces. (Duellman y Trueb, 1986). Asimismo, el número promedio de espermátforos en la familia Ambystomatidae, se ha visto que oscila de 12 a 40 espermátforos (Hernández, 2001). Transcurridas 24 horas, después del cortejo, la hembra deposita entre 100 y 600 huevos (Duhon, 1992).



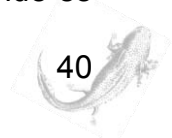
Relación de la talla de las hembras y tamaño de puestas

La cantidad de huevos que puede poner una hembra adulta de *A. mexicanum* es alrededor de 660 por puesta (Amstrong y Malacinski, 1989). Aunque al tener las condiciones ideales, las hembras que están en cautiverio son capaces de mantener esta cantidad de huevos únicamente durante 5 o 6 años, después el número disminuye. En relación a lo anterior se ha reportado que las hembras pueden poner entre 600 a 1500 huevos (CONABIO, 2011).

En este trabajo se encontró una correlación positiva entre el número de huevos que ovoposita una hembra con respecto a la LHC, similar a lo observado por otros autores como Montori (1988, 1992). Respecto al tamaño del huevo con el tamaño corporal de la hembra, se ha encontrado correlaciones positivas en salamandras (Nussbaum, 2003). En este trabajo no se observó una correlación entre el peso de los huevos con la LHC de las hembras. Lo anterior posiblemente a que estas dirigen la energía a la producción de huevos de una misma talla en todo momento de su vida reproductiva. A su vez esto puede estar siendo influenciado por factores como la competencia, depredación, disponibilidad de recursos, temperatura, entre otros, lo anterior se ha reportado en algunas poblaciones de anfibios en zonas con latitud y altitud elevadas, que tienden a producir huevos grandes de nidadas pequeñas o viceversa (Crump 1984; Morrison y Hero, 2003; Pettus y Angleton, 1967).

Diámetro de huevos y LT de alevines

Los resultados obtenidos en este trabajo no concuerdan con los obtenidos por Nussbaum (2003), ya que encontró en un estudio con salamandras una correlación positiva entre el tamaño del huevo y la LT al eclosionar. Para *Ambystoma* sp. También se han registrado tallas de aproximadamente 11 mm después de la eclosión (Clare, 2012), de esta manera podemos encontrar que el diámetro de los huevos y la LT de alevines son variables aleatorias, en donde se

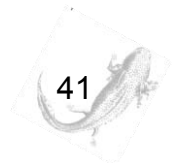


presenta una serie de factores que se vinculan con el crecimiento como: la alimentación de los alevines, calidad del agua de mantenimiento, densidad, la incidencia de luz, el estrés en cautiverio, enfermedades, entre otros (Robles-Mendoza *et al.* 2009; Pramuk y Gagliardo, 2008).

Asimismo la duración del desarrollo embrionario y larvario esta modificada por factores ambientales como la incidencia de la luz, temperatura del agua, alimento, grosor de las larvas, química del agua, entre otros (Cruz y Rodríguez, 2015). En este estudio las fases del desarrollo embrionario se compararon con las registradas por Armstrong y Malacinski (1989), a una temperatura de 29°C y un desarrollo embrionario de 342 hrs. El desarrollo embrionario en este proyecto fue de 360 horas, con una temperatura de 17 a 19°C, menor a la de Armstrong y Malacinski. Duhon (1992), menciona que al mantener a los embriones con temperaturas de hasta 25 °C aceleran su desarrollo, esto fue comprobado en la colonia de ajolotes del zoológico de Chapultepec (Servín, 2011). Aunque si las condiciones son adecuadas, la eclosión se presenta después de 11 a 15 días de la fecundación (CONABIO, 2011).

TABLA DE VIDA (supervivencia de puestas hasta la etapa juvenil)

Los ciclos reproductivos de *A. mexicanum* en condiciones de laboratorio son semejantes a los silvestres, ya que presentan un ciclo anual sincrónico entre machos y hembras, con una mayor frecuencia de puestas durante los meses de noviembre a febrero, ya que la puesta de un ajolote va determinada por la temperatura del agua, una disminución y un posterior aumento (12-18 °C), inducen al ajolote a realizar el cortejo, el apareamiento y la puesta de huevos (Popoca-Velázquez y Rubí-Vázquez, 2006). Pero al brindar las condiciones de luz, temperatura y alimentación similares a la época invernal, se estimula la liberación de hormonas folículo estimulantes (FSH) y luteinizante (LH) también llamadas gonadotroficas, porque actúan en testículos y ovarios, estas hormonas provienen de la adenohipófisis (parte anterior de la glándula pituitaria) (Puente, s.a.).



En hembras de *Ambystoma velasci* se ha observado la presencia de ovocitos en ovario en los meses de marzo, mayo, junio, agosto, septiembre y diciembre, por lo cual *A. velasci* presenta una actividad reproductiva constante (Juárez y Garza, 2006). De tal forma se demuestra que *A. mexicanum* potencialmente puede presentar un ciclo reproductivo continuo de tipo oportunista (generalmente poseen tallas pequeñas, madurez precoz, fecundidad relativa elevada, época de reproducción larga con numerosas puestas), en condiciones de cautiverio. Mientras que en poblaciones naturales se ha registrado que la época reproductiva se presenta en el invierno (CONABIO, 2011).

Aunque con la reproducción asistida en *A. granulosum* se han obtenido puestas por el método de inducción de la ovulación y se han registrado porcentajes de fertilidad del 94%, mientras que en *A. lermaense* se han registrado 78% y 98% de fertilidad (Aguilar *et al.* 2009), en la colonia sin utilizar este método, se han registrado en un año un porcentaje fertilidad del 87.17 %.

En este trabajo se obtuvo una supervivencia del 0 al 32.68%, mayor a los porcentajes obtenidos por Otto-Parrodi (1999) de 0.5 y 3.0 %, y a los de Maya (2006) que fueron de 0% y 4.65 %. En este trabajo se realizó el método de inducción de puestas, manteniendo la temperatura invernal (17 a 19 °C), de esta forma se obtuvieron las puestas en otras épocas del año, y se logró estimular a los organismos. De tal manera que factores ambientales como el pH, la temperatura del agua, niveles de oxígeno disuelto, entre otros, influyen para la reproducción de esta especie y al mantenerlos controlados, se presenta un mayor éxito reproductivo.

Supervivencia

Los alevines de *A. mexicanum*, presentan una alta mortalidad durante los primeros días de su vida, se ha reportado que el 1% de las crías recién eclosionadas, llegan a la madurez sexual (aproximadamente al año de edad) (Servín, 2011). En este



trabajo con los resultados obtenidos en la colonia, se obtuvo un 5% de supervivencia, por lo cual las condiciones para el mantenimiento de alevines han sido buenas. Asimismo se presentó una curva de supervivencia de tipo III, la cual implica que la mayoría de los organismos muere durante las primeras etapas del ciclo de vida, de tal forma que pocos alcanzan categorías intermedias de edad (Valverde *et al.* 2005).

Otro factor importante en la supervivencia de alevines utilizados en las curvas fue que presentaron hongo en branquias lo que pudo haber influido en su mortalidad, además de que mostraban características de estrés como la cola torcida. Para este tipo de casos se han realizado análisis microscópicos, donde se observan protozoarios ectoparásitos en la piel, estos atacan el sistema dérmico, debilitando a los organismos y permiten la entrada a otras enfermedades. Aunque por la falta de espacio o la sobrepoblación son factores que se les infiere la causa de estrés en las crías, otra posible causa es la concentración de amonio en el agua, originado por la excreción de los organismos (Otto-Parrodi, 1999). De tal manera que al tener una talla de 50 mm se mantienen de forma individual en contenedores con una capacidad de entre 4 a 6 L. de agua. Otra causa de mortalidad es la susceptibilidad a enfermedades micóticas. Se menciona que *Saprolegnia* sp. (Mena-González y Servín-Zamora, 2014), es uno de los principales agentes que afectan a las crías, donde se observa un crecimiento algodonoso sobre la piel y las branquias.

A. mexicanum desarrolla el canibalismo en etapas tempranas, donde las tallas de las crías son dispares, algunas se desarrollan rápidamente y se comen a los alevines de menor tamaño (Servín, 2011), por este motivo se realizan separaciones en contenedores con el propósito de mantener el menor número de organismos juntos (Otto-Parrodi, 1999).

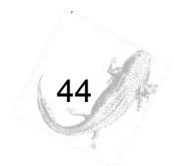


MANTENIMIENTO CON DIFERENTES SOLUCIONES

Los resultados obtenidos en estos tratamientos denotan un mejor crecimiento en los ajolotes que se mantuvieron en agua de grifo de clorada y solución Holtfreter. Aunque se ha reportado que en la solución Holtfreter, los alevines presentan una mejor condición fisiológica, por lo cual se propone el uso de esta solución para desarrollos tempranos de *A. mexicanum* bajo condiciones de cautiverio. De esta manera la energía implicada en los mecanismos de regulación osmótica se reduce en los medios de mantenimiento, lo cual provoca un mejor crecimiento y estado fisiológico adecuado (Robles-Mendoza *et al.* 2009).

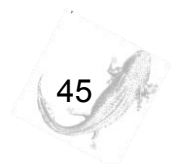
En la solución EPA se presentó un menor crecimiento con una alta mortalidad, por esto solo se recomienda para el control de enfermedades en organismos adultos, y no para etapas tempranas. Se infiere que la cantidad de sales de esta solución posiblemente causó la alteración de su estado fisiológico. En poblaciones de anfibios, la salinidad produce un estrés fisiológico, principalmente porque tienen una limitada capacidad de osmorregulación, y como consecuencia acarrea efectos negativos en la supervivencia y desarrollo, periodo larvario y peso de los renacuajos, lo que generalmente repercute en su viabilidad, velocidad de desarrollo y talla (Gómez–Mestre y Tejedo, 2003 y 2004).

Por otra parte, los altos valores de supervivencia del 87% y 93% que se obtuvieron al final de las pruebas en el agua de grifo de clorada y la solución Holtfreter, se sugiere que cualquiera de estas soluciones mantiene el estado fisiológico de las larvas de *A. mexicanum*, la cual tiene la misma concentración de iones en el medio y en los organismos, la solución Holtfreter al 20% se utiliza en las primeras etapas de anfibios, en especial para prevenir infecciones (Clare, 2012).



CONCLUSIONES

- *Ambystoma mexicanum* se puede mantener exitosamente con las condiciones presentes en la colonia de la F.E.S. Iztacala con una temperatura del agua entre los 10-18 °C, un pH 7.0 a 7.7, y una alimentación distinta para cada etapa.
- No hay diferencias en AI y L de la cabeza, aunque se muestran diferencias entre machos y hembras en el AN de la cabeza y LT. Asimismo *A. mexicanum* presentó un ciclo reproductivo continuo en condiciones de laboratorio. Las conductas de cortejo que se observaron, fueron similares a las presentadas en la familia Ambystomatidae, donde la hembra se acerca al macho y el comienza a nadar alrededor de ella, posteriormente deposita el espermatóforo.
- Existió una correlación entre la LHC, con el tamaño de puesta. Aunque no se encontró una correlación entre el diámetro del huevo y la LT al eclosionar.
- Se encontró que la temperatura influye durante el desarrollo embrionario.
- Se registró un porcentaje de fertilidad del 87%, un porcentaje de supervivencia del 0 al 33% y se obtuvo una curva de supervivencia de tipo III. En los primeros cuatro meses se mostró una alta mortalidad, posteriormente se estabilizó la supervivencia de las crías entre el quinto y el séptimo mes.
- Los ajolotes mantenidos en el agua de grifo declorada y la solución Holtfreter, tuvieron una tasa de crecimiento mayor en comparación con solución EPA, por lo se recomienda este tipo solución para etapas tempranas, mientras que la solución EPA solo se debe de utilizar durante la etapa adulta.



Literatura citada

Aguilar-Miguel, X., G. Legorreta y G. Casas-Andreu. 2009. Reproducción *ex situ* en *Ambystoma granulatum* y *Ambystoma lermaense* (AMPHIBIA: AMBYSTOMATIDAE). *Acta Zoológica Mexicana* 25 (3): 443-454.

AmphibiaWeb: Information on amphibian biology and conservation. 2013. Berkeley, California: AmphibiaWeb. Disponible: <http://amphibiaweb.org/>; última consulta: 08.X.2013.

Armstrong J. B. y G. M. Malacinski. 1989. Raising the Axolotl in Captivity. *Developmental Biology of the Axolotl*. Edit. Oxford University Press. UK. 320 pp.

Ballou J.D. and R.D. Lacy. 1995. Identifying genetically important individuals for management of genetic diversity in pedigreed populations. *Population Management for Survival and Recovery*. Analytical Methods and strategies in Small Population Conservation. Columbia University Press. Pp. 76-111.

Biasutti, A. 2006. *Ambystoma mexicanum* (Shaw, 1789). Sociedad Acuariologica del Plata. 6 pp.

Brodman, R. and Jaskula, J. 2002. Activity and microhabitat use during interactions among five species of pond-breeding salamander larvae. *Herpetológica*, 58(3): 346-354.

Busacker, G. P., I. R. Adelman and E. M. Goolish. 1990. Methods for fish biology. American Fisheries Society, Pp. 363-387.

Cano-Martínez, A., A. Vargas-González, V. Guarner-Lans, E. Prado-Zayago, M. León-Olea y B. Nieto-Lima. 2010. Functional and structural regeneration in the

axolotl heart (*Ambystoma mexicanum*) after partial ventricular amputation. Arch. Cardiol. Méx. 80 (2):79-86.

Canseco-Márquez, L. y G. Gutiérrez-Mayén. 2010. Anfibios y reptiles del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. CONABIO, Fundación para la Reserva de la Biosfera Cuicatlán, A. C, y la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. 302 pp.

Carrillo, L. 2008. Arca de anfibios. Las ranas importan. Asociación de Zoológicos, criaderos y acuarios de México. Pp. 5-9.

Chaparro, D. J. 2007. *Biología de la alimentación de Ambystoma mexicanum: implicaciones para su conservación*. Tesis de Maestría en Ciencias (Ambiental). UNAM. Pp. 9 – 23

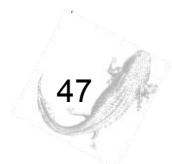
CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres). 2013. Secretaria CITES, Ginebra, Suiza. Disponible en: www.cites.org; última consulta: 08.X.2014.

Clare, J. P. 2012. Biología de Axolotls. USA. Disponible: www.axolotl.org; última consulta: 14.V.2015.

CONABIO, 2010. *Ambystoma mexicanum* (ajolote). Distribución conocida, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México.

CONABIO, 2011. Fichas de especies prioritarias. Ajolote mexicano (*Ambystoma mexicanum*). Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, D.F. 6 pp.

CONAGUA. 2013. Fundamentos técnicos para el muestreo y análisis de aguas residuales. Pp. 9-27.



CONANP. 2009. Monitoreo del Ajolote (*Ambystoma altamirani*) en el Parque Nacional Lagunas de Zempoala. Corredor Biológico Chichinautzin. 3 pp.

CONANP, 2013. Programa de Conservación de Especies en Riesgo. México. Disponible en: www.conanp.gob.mx/procer/procer_2013.php; última consulta 10.X.2014.

Contreras, V., E. Martínez-Meyer, E. Valiente, L. Zambrano. 2009. Recent decline and potential distribution in the last remnant area of the microendemic Mexican axolotl (*Ambystoma mexicanum*). *Biological Conservation*. 142: 2881-2885.

Crump, M.L. 1984. Intraclutch egg size variability in *Hyla crucifer* (Anura: Hylidae). *Copeia*, 302–308.

Cruz, S. y E. Rodríguez. 2015. Anfibios y cambio global. Disponible en: www.bioscripts.net/zoowiki/temas/39B.html; última consulta 5.VIII.2015.

Dorantes, A., C. Martínez y A. Guzmán. 2012. Endocrinología clínica. El Manual Moderno. Mexico, D.F. Pp. 96-98.

Duellman, W. and L. Trueb. 1986. *Biology of Amphibians*. McGraw - Hill, New York. Pp. 61-65.

Duhon, S. 1992. Spawning Axolotls at UI: a ten-year history. Indiana, USA, Axolotl newsletter. 21: 29-36.

Duhon, S. 1994. Short guide to axolotl husbandry. Indiana University, Axolotl Colony Press. USA.

Frías-Álvarez, P., J. Zúñiga-Vega and G. Parra-Olea. 2010. UV-B radiation severely affects embryo development in the Mexican axolotl. *Animal Biology* 60 (3): 299-318.

Gama, J., E. Pavón, T. Ramírez y O. Ángeles. 2010. Análisis de Calidad del Agua; Relación entre factores bióticos y abióticos. Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM. Pp. 67-70.

Gascon, C., J. Collins, R. Moore, R. Church, J. McKay, y J. Mendelson. 2005. Amphibian Conservation Action Plan. IUCN/SSC Amphibian Specialist Group. Gland, Switzerland. Pp.14.

Gómez-Mestre, I. and Tejedo, M. 2003. Local adaptation of an anuran amphibian to osmotically stressful environments. *Evolution*, 57(8): 1889-1899.

Gómez-Mestre, I. & Tejedo, M. 2004. Contrasting patterns of quantitative and neutral genetic variation in locally adapted populations of the natterjack toad, *Bufo calamita*. *Evolution*, 58(10): 2343-2352.

Gresens, J. 2004. An Introduction to the Mexican Axolotl (*Ambystoma mexicanum*). Department of Biology. Lab. Animal. 33(9): 41- 47.

Griffiths, R., V. Graue y I. Bride. 2003. The Axolotls of Lake Xochimilco: The Evolution of a Conservation Programme. *Axolotl News* an informal journal for the urodele research community. Pp 12-18.

Guillén, F. y S. Ramírez. 2004. Opciones de manejo para fauna silvestre en cautiverio (Programas de manejo para fauna silvestre cautiva y recomendaciones básicas para la sujeción, transporte y mantenimiento de animales decomisados y rescatados). Parque de Conservación de Vida Silvestre Zoo Ave. Fundación Restauración de la Naturaleza. Costa Rica. Pp. 3-11.

Hernández, G. 2001. Revisión sobre la reproducción de *Ambystoma mexicanum*. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. Reproducción Animal. 40 pp.

Juárez, J. y J. Garza. 2006. Datos morfométricos y época reproductiva del ajolote, *Ambystoma velasci*, en la Laguna de Tecocomulco, Hidalgo, México. Laboratorio de Vertebrados, Facultad de Ciencias, UNAM. X Reunión Nacional de Herpetología, Hidalgo, México. Pp. 31 – 32.

Kaplan, M. 2014. Breeding and Raising the House Ckicket. Herp Care Collection. Disponible en www.anapsid.org/crickets.html; última consulta: 25.V.2015.

Krebs, J. and Davies, N. 1993. ***An Introduction to Behavioral Ecology***. Chapter 8. Sexual conflict and sexual selection. Blackwell, Oxford. 24 pp.

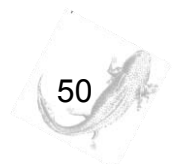
Martínez, C. 2013. Lombricultura. Secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural pesca y alimentación. *Subsecretaría de desarrollo rural*. Dirección general de apoyos para el desarrollo rural. 8 pp.

Maya, O. 2006. Aspectos de mantenimiento y desarrollo en cautiverio del ajolote mexicano (*Ambystoma mexicanum*). Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México. 39 pp.

Mena-González, H. y Servín-Zamora, E. 2014. Manual básico para el cuidado en cautiverio del axolote de Xochimilco (*Ambystoma mexicanum*). Instituto de Biología. UNAM, México, D.F. 34 p.

Molina, A. 2010. El ajolote de Xochimilco. Ciencias. Pp. 54-59.

Montori, A. 1988. Estudio sobre la biología y ecología del tritón pirenaico *Euproctus asper* (Dugès, 1852) en La Cerdanya. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona. 486 pp.



Montori, A. 1992. Alimentación de las larvas de tritón pirenaico, *Euproctus asper*, en el prepirineo de la Cerdaña , España. *Amphibia-Reptilia*, 13: 157-167.

Morrison, C. and J. Hero. 2003. Geographic variation in life-history characteristics of amphibians: a review. *Journal of Animal Ecology*. 72: 270–279.

Nugas, C. y S. Bryant. 1996. Axolotl larvae housing methods. *The Axolotl Newsletter*. Laboratory Developmental Biology Center University of California Irvine, CA. 25:14-17.

Nussbaum, R. 2003. Parental care: Reproductive biology and phylogeny of Urodela. Science Publishers Inc. USA. Pp. 527-612.

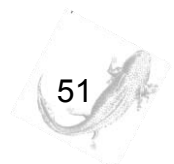
Ortega, A. 1999. El ajolote. Instituto de Fisiología de la Universidad Autónoma de Puebla. Pp. 55-57

Otto-Parrodi, E. S. 1999. Conservación del ajolote (*Ambystoma mexicanum*) mediante su cultivo y siembra en el Parque Ecológico de Xochimilco. Patronato del Parque Ecológico de Xochimilco AC. Hoja de cálculo SNIB-CONABIO proyecto No. J087. México D. F. 38 pp.

Parra-Olea, G., O. Flores-Villela y C. Mendoza-Almeralla. 2014. Biodiversidad de anfibios en México. UNAM. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. Suplo. 85:460-466.

Pettus, D. and Angleton, G. 1967. Comparative reproductive biology of montane and piedmont chorus frogs. *Evolution*. 21:500–507.

Popoca-Velázquez, X. y N. Rubí-Vázquez. 2006. Alimentación y reproducción de *Ambystoma mexicanum* en el Laboratorio de Herpetología de la FES-Iztacala. UNAM. X Reunión Nacional de Herpetología, Hidalgo, México. Pp. 88 – 89.



Pramuk, J. y Gagliardo R. 2008. **Guía para el Manejo de Anfibios**. Capítulo 1 Cuidados Generales para Anfibios. Ed. *Grupo Consultivo de Anfibios (ATAG) de la AZA*. U.S.A. Pp. 78-80.

Puente, A. (s.a.). Ensayo: Huevos y larvas de anfibios. Pp. 325 – 337. Disponible en: www.aranzadi.eus/fileadmin/docs/Munibe/1958325344.pdf; última consulta: 22.VI.2015.

Reques, R. y A. Salvador. 2014. Anfibios - Orden Caudata - Familia Salamandridae en la Enciclopedia Virtual de Vertebrados Españoles. Disponible en: <http://www.vertebradosibericos.org/>; última consulta: 21.VII.2015

Robles-Mendoza, C., C. García-Basilio and R. Vanegas-Pérez. 2009. Maintenance media for the axolotl *Ambystoma mexicanum* juveniles (Amphibia: Caudata). *Hidrobiológica* 19(3): 205-210

SEMARNAT. 2010. 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.

Servín, E. 2011. Manual de mantenimiento en cautiverio y medicina veterinaria aplicada al ajolote de Xochimilco (*Ambystoma mexicanum*) en el Zoológico de Chapultepec. TESIS que para obtener el título de Médica Veterinaria Zootecnista. UNAM. 205 pp.

Shaw y Nodder, 1798. *Ambystoma mexicanum*. Vertebrados. Disponible en: inbuy.fcien.edu.uy/fichas_de_especies/DATAonline/DBASEimpresiones/Ambystoma_mexicanum_i.pdf ; última consulta 5.III.2014.

Takeuchi, H., T. Masuda y T. Nagai. 1994. Electrophysiological and behavioral studies of taste discrimination in the axolotl. *Physiology and Behavior*, Pp. 121-127.

Valiente, E. L., L. Zambrano, C. U. Sumano y H. Mena. 2013. La recuperación del Ajolote *Ambystoma mexicanum*, una experiencia de restauración aplicada. IV Congreso Mexicano de Ecología: Conocimiento Ecológico para la solución de problemas ambientales. Pp. 139- 140.

Valverde, T., J. Meave, J. Carabias, Z. Cano. 2005. *Ecología y medio ambiente*. Pearson Education. México. Pp. 45-48.

Vitt, L. and J. Caldwell, 2009. *Herpetology. An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*. Academic Press. Elsevier Inc. Pp. 425.

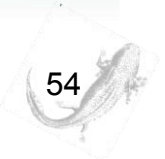
Wheaton, F. 1982. *Acuacultura, diseño y construcción de sistemas*. AGT Editor. S. A. México, D.F.

Zambrano, L., V. Reynoso y G. Herrera. 2003. Abundancia y estructura poblacional del axolotl (*Ambystoma mexicanum*) en los sistemas dulceacuícolas de Xochimilco y Chalco. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología. Informe final SNIBCONABIO proyecto No. AS004. México D. F. Pp. 8-10.

Zambrano, L., E. Martínez-Meyer, N. Menezes, A. Peterson. 2006. Invasive potential of common carp (*Cyprinus carpio*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in American freshwater systems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 63 (9): 1903 -1910.

Zippel, K. 2007. Amphibian larval biology and diversity/husbandry of larval amphibian. *Amphibian biology and management. Professional training program*. EUA: AZA.

ANEXOS



ANEXO 1. CONSEJOS Y SUGERENCIAS PARA EL MANTENIMIENTO DEL AJOLOTE EN CAUTIVERIO

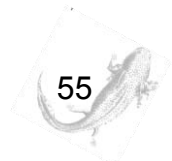
MANIPULACIÓN DE ORGANISMOS

Una colonia de ajolotes debe presentar buenas medidas de higiene y desinfección, asimismo los ajolotes deben ser observados constantemente y llevar registros sobre los eventos reproductivos, comportamiento, enfermedades, etc.

Para manipular esta especie se debe de evitar el uso de cremas, perfumes o algún nocivo que esté presente en las manos, antes de manipular a los organismos. Asimismo, el uso de redes limpias es de vital importancia para trasladar a los ajolotes a otros contenedores mientras se realiza limpieza de peceras y contenedores, por lo cual se serán desinfectados con ciprix o sal de acuario, los cuales posteriormente se enjuagaran, esta limpieza y desinfección de los contenedores se realiza 3 veces a la semana (lunes, miércoles y viernes).

El área cuenta con filtros de agua e instrumental apropiado para el cuidado de los ajolotes. El agua de grifo que se utiliza para llenar los contenedores, se mantiene en reposo 24 horas para remover el cloro y el pH del agua se conservará entre los 6.5 – 8, ya que el agua dura contiene gran cantidad de minerales, lo cual le proporciona al organismo la prevención de enfermedades y parásitos (Duhon, 1994). Por otra parte es importante que los cuidadores observen anomalías en los ajolotes como:

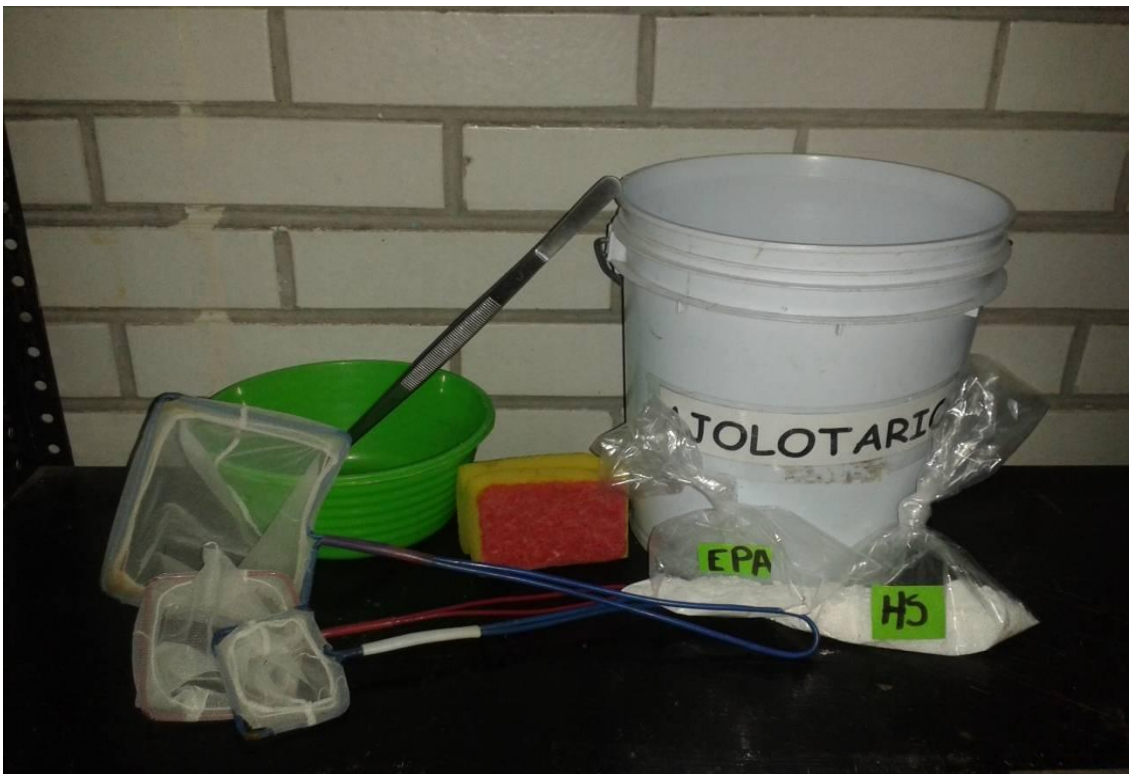
- Cambio de comportamiento
- Dieta (comen o no comen)
- Nado anormal
- Presencia de manchas blanquecinas en piel
- Presencia de masas o algodoncillo
- Presentan la cola doblada
- Se ven más delgados
- Aumento de tamaño (aire/liquido)



En la colonia se realizan cambios totales de agua cada tercer día y se lavan los contenedores de la siguiente manera:

1. Se vacía agua del contenedor a un recipiente limpio
2. Posteriormente se saca al ajolote y se coloca en el recipiente
3. Se vacía el contenedor y se desinfecta con sal de acuario diluida o ciprix
4. Se tallan las paredes del contenedor con una esponja o fibra (exclusivamente para este uso), esto con la finalidad de retirar materia y microalgas que se adhieren a las paredes.
5. Se enjuaga en contenedor con agua de grifo.
6. Por último, se coloca el contenedor en su lugar y se llena con agua de grifo (4 L) reposada por 24 horas, incorporando al ajolote.

Las redes que sean utilizadas se deben dejar con al 7% por 24 horas, en el caso de cubetas, pinzas y esponjas solamente se enjuagaran con agua corriente después se enjuaga y se deja secar al sol.



MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD EN LA COLONIA

Las medidas preventivas que se llevan a cabo dentro de una colonia de ajolotes tienen como objetivo el proteger la salud y la seguridad del personal que se encuentra en esta área. Por lo cual se debe de contar con:

- Tener un área especial para cuarentena
- Lavado y desinfección del material
- Uso de guantes/ lavado de manos (zoonosis)

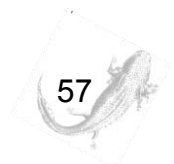
Dentro del área de cuarentena se manipularan a los ajolotes enfermos durante un periodo de 45 a 90 días, estos deben de estar separados del resto: tanto individuos como material, se deben tomar de muestras y registros de salud cada tercer día

Asimismo la colonia cuenta con un veterinario para el análisis de muestras de exámenes coproparasitoscópicos, exámenes físico generales, toma de muestras de piel, sangre, etc.

ÁREA DE CUARENTENA

En caso de que los organismos presenten alguna enfermedad se deberán de realizar las siguientes indicaciones:

- Separar al organismo enfermo del resto
- Llevar registro en hojas de tratamiento, así como bitácoras
- Dependiendo del tratamiento se vigilara el nivel de agua y aireación
- Filtrado sencillo (sifonear o cambios completos de agua)



ANEXO 2. Crianza de grillos (*Acheta domesticus*)

El laboratorio de Herpetología-Vivario cuenta con un insectario, donde se mantienen las condiciones necesarias para el cultivo de grillos y otros insectos que se utilizan para el consumo de algunos organismos que se encuentran en la colección de este lugar.

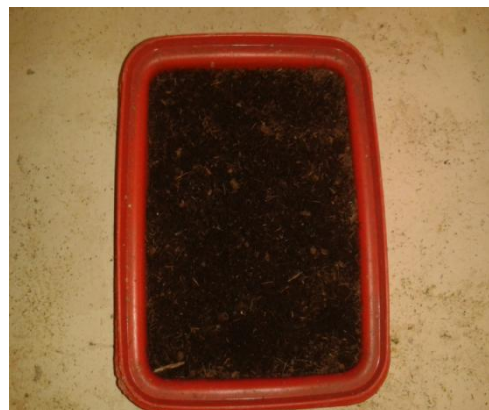
La cría del grillo *Acheta domesticus* se ha utilizado como alimento vivo para animales insectívoros criados en cautiverio, ya que presentan un crecimiento rápido, asimismo tienen un alto nivel proteico y bajo nivel lipídico, con el fin de evitar enfermedades como hígado graso en los ajolotes.

¿Cómo empezar un criadero de grillos?

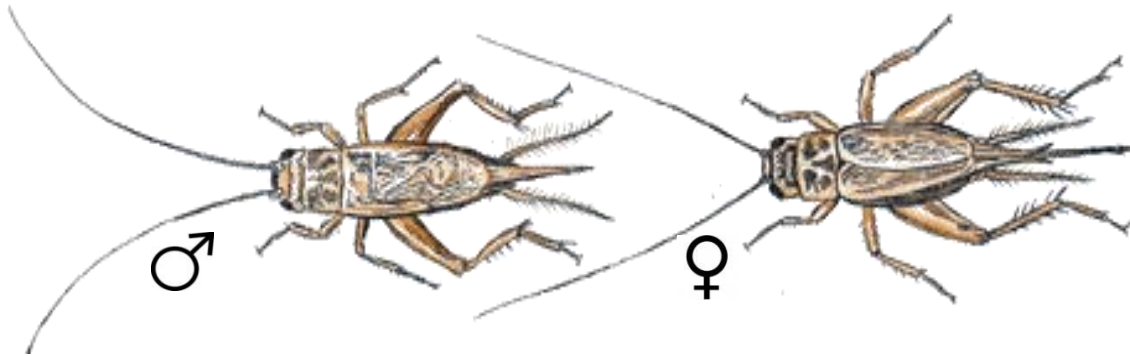
Paso 1. Se necesitan contenedores amplios, los cuales deben de tener orificios para la entrada de aire, otra opción es colocar una malla de metal. Los recipientes se dividen en grillos reproductores y crías. Los contenedores deben ser amplios, ya que al encontrarse en lugares reducidos empiezan a comerse entre sí, para que se presente menos competencia por los recursos.



Paso 2. En un contenedor de plástico se coloca peatmuss estéril, este recipiente es necesario para que las hembras coloquen sus huevos.



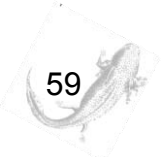
Paso 3. Se necesitan de 30 a 50 grillos para que se reproduzcan, es importante que dentro de los contenedores se encuentren más hembras que machos. Podemos diferenciar a las hembras de los machos, ya que estas tienen tres extrusiones largas en la parte trasera (ovipositor u oviscapto), esta estructura la utilizan para depositar sus huevos en la tierra y presentan alas desarrolladas en su etapa adulta. Mientras que los machos tienen dos extrusiones, sus alas son cortas (poco desarrolladas), las cuales son utilizadas para producir sonidos.



Paso 4. En el contenedor también se les coloca un plato poco profundo con alimento comercial para pollos y se coloca un bebedero de agua, el cual se deberá de cubrir con papel la salida del agua para evitar el ahogamiento de los grillos.



Paso 5. Los grillos necesitan una temperatura de 30 °C, por lo cual necesitan de una lámpara o foco de 40 watts. Asimismo esta área debe de contar con un calentador para proporcionarles calor y para incubar los huevos (Kaplan, 2014).



Paso 6. Después de dos semanas, los grillos escavan de 1.25 cm en el sustrato para colocar los huevos, posteriormente se observaran huevos alargados similares al grano del arroz. El recipiente se debe de mantener húmedo (70%), para evitar que se sequen los huevos.

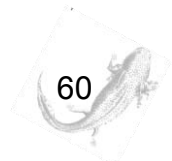


Paso 7. Para la incubación de los huevos es necesario mantener una temperatura entre los 28 - 30 °C. Después de dos semanas los huevos empiezan a eclosionar y emergen pequeños grillos del sustrato. A las crías se les proporcionara alimento y agua para que crezcan y tengan el tamaño adecuado para ponerlos en reproducción, por lo general se espera de 7 a 10 días.



NOTAS

1. Los bebederos de agua se deben de cambiar 3 veces a la semana, para evitar el crecimiento de bacterias en el agua.
2. Se debe de retirar los grillos muertos, ya que los grillos se pueden alimentar de los que mueren, esto puede propagar bacterias y dañar a la colonia.
3. Se pueden utilizar tiras de espuma para sellar la tapa del contenedor y evitar que los grillos escapen.
4. Cada 3 meses se compraran grillos para evitar la endogamia en la colonia.
5. Después de la eclosión de los huevos se pueden colocar hueveras de cartón, lo que permite conseguir una mayor superficie para los grillos y que no haya ataques entre ellos.



Anexo 3. Lombricomposta (*Lumbricus terrestris*)

Para comenzar un cultivo de lombrices o lombricomposta es necesario considerar los factores principales con los cuales se desarrollan, se considera que las lombrices se desarrollan a una temperatura de 25°C, con un pH entre 6.5 y 7.5, con una humedad de 75 a 80 %, esta es requerida para el movimiento de las lombrices en el sustrato y facilitar la fragmentación de los mismos, así como para su respiración (Martínez, 2013).

Una de las ventajas este cultivo es que el organismo presenta un alto contenido de proteína, lo cual permite utilizarse como complemento en la alimentación de animales.

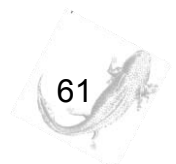
¿Cómo iniciarse en la lombricultura?

Se deben conocer los elementos básicos para el desarrollo de la lombricomposta para iniciar esta actividad asimismo se deben de contar con 3 áreas

Área 1. Inicial. En esta área se acumulan la materia orgánica que servirán de alimento a la lombriz.

Área 2. De cultivo. Para establecer las camas, donde las lombrices transforman la materia orgánica en abono.

Área 3. Final. En este contenedor se colocan las lombrices sobre una servitoalla con agua para purgar a las lombrices.



¿Cómo establecer el área de cultivo?

Paso 1. Es necesario tener un contenedor amplio, al cual se le deberán de hacer agujeros para el drenaje del agua. Se coloca una malla plástica del tamaño del contenedor



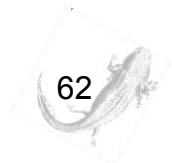
Paso 2. Se coloca una cama de hojas, posteriormente una cama de aserrín y finalmente una cama de materia orgánica (desechos de fruta o verdura), en esta capa se colocan las lombrices para que comiencen a degradar los desechos de fruta y verduras.



Materia orgánica y lombrices

Aserrín

Hojarasca



Paso 3. Se cubre esta última capa con aserrín y hojarasca para evitar la entrada de insectos.



Tres veces a la semana se colocara materia orgánica en el cultivo y se regara dos veces a la semana, con el fin de mantener la humedad. Asimismo es recomendable que se vigile el cultivo para evitar la invasión de hormigas, moscas, bacterias, etc.

Después de un mes de establecer el área de cultivo, se podrá tomar la cantidad de lombrices necesarias para alimentar a la colonia de ajolotes.



Anexo 4. Tabla de vida

Fecha	Tamaño de puesta (# huevos)	# de huevos infértiles	% de fertilidad	% de supervivencia
8/Enero/2014	531	228	57.06	5.61
27/Enero/2014	357	50	85.99	0
3/Febrero/2014	549	17	96.90	3.57
4/Febrero/2014	542	5	99.08	1.86
18/Febrero/2014	254	0	100	32.68
21/marzo/2014	649	0	100	0
28/Marzo/2014	512	4	99.22	0.79
26/Mayo/2014	595	0	100	0
3/ Julio/2014	512	0	100	0
21/Julio/2014	448	440	1.79	0
19/Agosto/2014	346	0	100	0
28/Agosto/2014	25	1	96	4.17
18/Septiembre/2014	218	6	97.25	0