



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO.**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA.**

**COMPARACIÓN DE ASPECTOS REPRODUCTIVOS
CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA DE *AMBYSTOMA
GRANULOSUM*, *AMBYSTOMA LERMAENSE* Y
AMBYSTOMA MEXICANUM EN CONDICIONES DE
LABORATORIO.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE
BIÓLOGO**

PRESENTA

VILLEGAS PALMA ERICK DANIEL

**DIRECTORA DE TESIS: M. EN C. SANDRA FABIOLA ARIAS
BALDERAS**



Los Reyes Iztacala 2015.

Naucalpan, Estado de México



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

DEDICATORIA:

Esta tesis se la dedico a mis padres a mi hermana a mi sobrino y a mis compañeros y amigos que me han acompañado a lo largo de mi carrera, así como también a mis profesores y mis revisores de tesis que me han guiado en la realización de ésta ; a mis abuelos y toda mi familia esperando que este sea el comienzo de más éxitos dentro de mi vida y deseándoles lo mismo.

AGRADECIMIENTOS:

Les agradezco a mis padres por darme la oportunidad de estudiar una carrera, cosa que se dice fácil pero se presentan muchos retos, por su apoyo incondicional y por el buen ejemplo que me han dado esperando haberlo seguido de la mejor manera; agradezco la ayuda de mis compañeros, compañeras, amigos y amigas, por los buenos momentos vividos, lo cual para mi fue importante . Agradezco la oportunidad de conocer varios lugares que no me hubiera imaginado que existían, que conocí por las prácticas de campo de la carrera. Creo que la carrera de biología es una de las carreras más completas ya que tiene que ver con la vida misma.

Gracias a la UNAM por pertenecer a una de las instituciones más reconocidas.

Gracias a mi directora de tesis y a mis revisores por las buenas observaciones realizadas a ésta obra.

Agradezco la oportunidad de estar en el vivario de la FES-Iztacala en la cual tuve buenas experiencias, me la pase muy bien y creo que es algo que siempre voy a recordar.

“Cuando la tierra esté enferma y los animales salvajes estén desapareciendo, una tribu compuesta por gente de todas las culturas vendrá a decir con hechos y no con palabras, que el amor es fuente curación y ayudarán así a restaurar la vida en el planeta”.

Profecía Hopi.

INDICE.

INTRODUCCIÓN:	1
JUSTIFICACIÓN	3
OBJETIVO GENERAL:	5
OBJETIVOS PARTICULARES:	5
METODOLOGÍA:	6
OBTENCIÓN DE LAS PUESTAS; TAMAÑO DE PUESTA Y MANTENIMIENTO.....	6
RESULTADOS	9
APAREAMIENTO Y NÚMERO DE PUESTAS:.....	9
TAMAÑO DE PUESTA.....	11
CRECIMIENTO DURANTE LAS 10 PRIMERAS SEMANAS:	14
SOBREVIVENCIA:.....	15
DISCUSIÓN	18
TAMAÑO A LA ECLOSIÓN Y CRECIMIENTO.....	19
SOBREVIVENCIA	20
TEMPORADA REPRODUCTIVA	21
CONCLUSIONES:	23
LITERATURA CITADA	24
ANEXO.	27

Resumen

La familia *Ambystomatidae* pertenece al orden caudata la cual se ha enfrentado a la fragmentación de su hábitat y la merma de sus especies, tal es el caso de *A.mexicanum*, *A.granulosum* y *A.lermaense*, las cuales por la contaminación de las aguas en las que se encuentran, así como por la introducción de especies exóticas se enfrentan hoy en día al peligro de la extinción. Dichas especies nos han representado tanto en el ámbito cultural como en el científico por el grado de endemismo que podemos encontrar en nuestro país.

En este trabajo se realizó una comparación de los aspectos reproductivos y las variables relacionadas a ellos como el tamaño de la puesta, crecimiento, temporada de reproducción y sobrevivencia de dichas especies.

Con estos datos se realizaron las pruebas estadísticas respectivas como ANOVA para comparar el tamaño entre puestas, no se observaron diferencias significativas ($P=1.000$), en el crecimiento y en la sobrevivencia la prueba de Mann-Whitney tampoco mostró diferencias significativas ($P=0.413$), la sobrevivencia fue baja.

Palabras clave: *Ambystoma mexicanum*, *Ambystoma lermaense*, *Ambystoma granulosum*, reproducción, crecimiento, tamaño de puesta, sobrevivencia.

Introducción:

Los anfibios modernos son un grupo de vertebrados que se distinguen como un grupo monofilético por presentar las siguientes características comunes en morfología externa: piel lisa y muy vascularizada sin protección de escamas, plumas o pelo, lo cual facilita el intercambio de gases y que incluye glándulas mucosas y cerosas que humectan la piel y secretan toxinas que funcionan como mecanismo de defensa, además ponen huevos sin membranas extraembrionarias, los cuales dependen de ambientes húmedos para evitar la desecación, la familia Ambystomatidae tiene fertilización interna vía espermatóforo (Duellman y Trueb, 1994).

Constituyen un grupo de vertebrados con una diversidad total de 376 especies, México se posiciona como el quinto país en riqueza de éstos y cuenta con un total de 16 familias con representantes de los 3 órdenes. En general, el nivel de endemismo es muy alto, ya que 7 de las 16 familias presentes en México, contienen más de un 50% de especies endémicas para el país, incluyendo 6 géneros (3 de anuros y 4 de salamandras) que también son endémicos de México (Parra, 2014).

Los Ambystomatidos llegan a alcanzar la madurez sexual sin perder sus características larvales, a este proceso se le conoce como neotenia. Se convierten en una forma adulta, perdiendo sus características larvales como branquias y aletas, y el desarrollo de los rasgos de los adultos, como los párpados y los pulmones (Velarde, 2011).

Cinco especies de *Ambystoma* son neoténicas obligadas en la naturaleza, la más famosa es el ajolote mexicano *Ambystoma mexicanum*, cuatro especies son neoténicas facultativas, algunas poblaciones metamorfosean normalmente mientras que otras no lo hacen sin que su ambiente acuático llegue a ser inhabitable (Duellman y Trueb, 1986).



Los caracteres comunes de todos los anfibios como son su dependencia del agua y la humedad, sus complejos ciclos de vida y su piel relativamente sensible a las condiciones ambientales, sugieren que éstos son, en general, de los primeros grupos que pueden ser afectados por las alteraciones del medio (Wake, 1991). Asimismo debido a sus características biológicas y ecológicas, los anfibios desempeñan un papel clave en el flujo de energía y el ciclo de nutrientes tanto en ambientes acuáticos como terrestres. (Blaustein *et al*, 2005). Al ser carnívoros estos organismos pueden regular la dinámica de los ecosistemas acuáticos al reducir los índices de eutrofización natural, o el incremento en algunas poblaciones de insectos en los ecosistemas terrestres, de los cuales algunos son portadores de enfermedades para los humanos y otros afectan una gran diversidad de cultivos de importancia económica (Conelly *et al.*, 2011; Colon-Gaud *et al.*, 2009).

Normalmente son junto con algunas especies de peces, el eslabón de depredadores tope dentro de su ambiente (Shaffer 1989). Los ambystomas que habitan el Valle de México viven en cuerpos de agua permanentes dentro de la Faja Volcánica Transmexicana. *Ambystoma mexicanum*, *A. lermaense* y *A. granulatum* se consideran en riesgo de extinción a nivel global y se enlistan como “Críticamente amenazadas” por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y Recursos Naturales (IUCN,2011) y a nivel nacional, se enlistan como “Sujetas a Protección Especial” (Diario Oficial de la Federación 2010).

Toda información que brinde datos sobre su biología tales como reproducción, tamaño poblacional, crecimiento y sobrevivencia resultan trascendentales para el diseño de estrategias de conservación (Gibbons y Stangel,1999). No obstante, es indiscutible que la información publicada sobre el género *Ambystoma* en México todavía es escasa, limitándose a algunos aspectos de descripción de la especie (Taylor, 1940), distribución; dieta (Chaparro, 2007) y en algunos casos a aspectos reproductivos (Aguilar, 2009). Quizás la especie que más se ha utilizado como objeto de estudio es *Ambystoma mexicanum*, con innumerables trabajos en



biología del desarrollo y en evolución (Salthe, 1969; Anderson & Worthington, 1971).

Justificación

Es muy importante implementar *ex situ* las condiciones adecuadas de los organismos obtenidos por medio de donaciones o decomisos para su sobrevivencia ya que éstas tres especies de la familia Ambystomatidae se encuentran actualmente en peligro de extinción y en la categoría de críticamente amenazadas por la UICN y , si su medio natural no es el adecuado para su reintroducción el mantenerlos *ex situ* en condiciones de laboratorio es una opción para su sobrevivencia y plantear su posible reintroducción a su medio natural que permita que sus poblaciones se recuperen. El generar datos de los aspectos reproductivos permite saber con más precisión la época del año en que pueden reproducirse, el tamaño de puesta y el tamaño al eclosionar; esto ayuda a implementar medidas que permitirán darles las condiciones adecuadas. Por otra parte, medir el crecimiento nos da una idea del tiempo que se puede mantener dichos organismos hasta alcanzar el tamaño adecuado para su posible reintroducción ya que éstos son más vulnerables en etapas más tempranas de su desarrollo a la depredación en su medio natural. También es importante generar información actualizada sobre el tema ya que casi no existen trabajos al respecto.



ANTECEDENTES.

Alarcon y Flores en 1987 reprodujeron *Ambystoma mexicanum* con distintos tratamientos como aplicar diferentes temperaturas, el uso de Gonadotropina, FSH y progesterona en diferentes dosis en la UAM unidad Iztapalapa teniendo éxito con gonadotropina en dosis muy altas.

Otto en 1997, reprodujo *Ambystoma mexicanum* en estanques para su propagación y preservación intensiva en el parque ecológico Xochimilco.

Maya 2006, realizó un conteo de la supervivencia de los alevines de *Ambystoma mexicanum* y evaluó el crecimiento de ajolotes juveniles sometidos a tres dietas diferentes, siendo la más exitosa la que se hizo a base de *Achaeta domestica*.

En 2009 Aguilar y cols, reprodujeron a *Ambystoma granulosum* y *Ambystoma lermaense ex situ* con hormona Gonadotropina coriónica para estimular su reproducción, teniendo como resultado que *A.granulosum* se reproduce más facilmente en estado paedomórfico mientras que *A.lermaense* lo hace en estado metamórfico.

Mendoza y cols. (2009), registraron la sobrevivencia y el crecimiento en *Ambystoma mexicanum* de alevines en distintos medios, agua de la llave (libre de cloro), agua de la llave con solución comercial salina y de coloides y solución Holtfreter, dando un mejor resultado el mantenerlos en el medio Holtfreter.



Objetivo General:

Comparar aspectos reproductivos, crecimiento y sobrevivencia de *Ambystoma granulosum*, *Ambystoma lermaense* y *Ambystoma mexicanum* en condiciones de laboratorio.

Objetivos particulares:

Observar patrones de cortejo y apareamiento en *Ambystoma mexicanum*, *Ambystoma granulosum* y *Ambystoma lermaense*.

Conocer el número de puestas , tamaño de puesta y el tamaño a la eclosión.

Determinar el crecimiento de los alevines durante las primeras 10 semanas para observar posible desfase interespecífico.

Analizar la sobrevivencia en las tres especies de *Ambystoma* durante las primeras 10 semanas.

Conocer la época de reproducción de *Ambystoma granulosum*, *Ambystoma mexicanum* y *Ambystoma lermaense*.



Metodología:

Se le dio un acondicionamiento adecuado a las parejas de las distintas especies que se obtuvieron en el Laboratorio de Herpetología de la FES- Iztacala a excepción de *A.lermaense* (éstos fueron donados); se tuvo el cuidado necesario en cuanto a la calidad de agua (Mena *et al* 2014 y Duhon 1994), así como también se simuló la vegetación con rafia plástica para que depositaran sus huevos de la manera adecuada y éstos no tuvieran algún tipo de problema al desovar, se sostuvieron cambios constantes de agua con la finalidad de que la calidad de ésta no bajara y para evitar enfermedades por hongos, bacterias etc.

Las parejas que se usaron como reproductoras fueron sometidas a un fotoperíodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad para estimular de esta forma la secreción de las hormonas gonadotropinas y de esta manera insitar a la reproducción. Se estudiaron organismos de tres especies de *Ambystoma* sexualmente maduros y se procedió al manejo y mantenimiento de parejas de las tres diferentes especies (*Ambystoma mexicanum*, *A. granulosum* y *A. lermaense*) en peceras de 20 litros con rafia para que una vez que éstas mostraran conductas de cortejo y apareamiento los machos depositaran sus espermátóforos en el fondo de las peceras y la hembra pudiera recogerlos para que se efectuara la fecundación y una vez grávidas las hembras pusieran sus huevos (anexo, figura 1). Una vez obtenidas las puestas, se pusieron en peceras de 20 l, se cuidó la calidad del agua dejándola declorar al menos con un día de anticipación a un pH ligeramente mayor a 7.5.

Obtención de las puestas; tamaño de puesta y mantenimiento.

Cuando se obtuvieron las puestas se les dió el tratamiento adecuado con los cambios de agua pertinentes de cada tres días para evitar una variabilidad en las características del agua, el agua pasaba por tres filtros 2 de carbon activado y una de porcelana; esto garantizaba la pureza del agua ya que se sabe que el carbon activado absorbe los contaminantes del agua así como también la porcelana por lo



cual se confió en la utilización de ésta, en cuanto a la disponibilidad de oxígeno se les mantenía con una bomba de aire estándar. Sin embargo, los cambios de agua no fueron al 100% totales en el caso de los alevines ya eclosionados ya que se ha observado que al hacer los cambios totales de agua éstos se llegan a morir (Arias, *com.pers*). Al eclosionar se les alimentaba con pulga de agua debido a su pequeño tamaño y a la cuarta semana se les alimentó con tubifex ya que habían alcanzado un tamaño mayor (Duhon 1994). Tanto a la pulga de agua como el tubifex se les daba un tratamiento de purga para eliminar cualquier contaminante por lo menos 2 días antes de poderles dar su respectivo alimento y para el tubifex en específico también se realizaba un cambio de agua cada dos días así como también se le mantuvo con oxígeno ya que de no darles estas condiciones son propensos a morir y poco viables para alimentar a los alevines de *Ambystomas* (Mena y Servín 2014).

Posterior a la eclosión ,se tomaron fotos de la puesta dos veces por semana manteniendo una regla estándar debajo (anexo, figura 2), para ello se utilizaron cajas Petri y se colocaron 5 alevines dentro de la misma (debajo de la caja un número en una tarjeta indicaba la repetición) las fotografías se tomaron con una cámara digital de 14 Megapíxeles, y se midieron con la ayuda del programa *Image tool* (anexo, figura 3), ya que los alevines son muy pequeños y se mueven demasiado lo cual complica una medición manual, se realizaron mediciones de la Longitud Total (LT) de los alevines; se calibró la medida de un mm dentro del programa antes de tomar la longitud con la regla del programa. Una vez tomados los datos se trabajaron en Excel para obtener la media estadística. Las medidas obtenidas de cada caja petri (la cual tenía 5 alevines), se tomó como una repetición y se sacó el promedio de la longitud de estos así como el error; dicho procedimiento se realizó sólo para las dos especies de *Ambystoma* que se reprodujeron en el laboratorio (*Ambystoma granulosum* y *Ambystoma mexicanum*) ya que en el caso de *Ambystoma lermaense* no mostró conductas reproductivas ni se obtuvieron puestas por lo que la comparación para este caso, se hizo mediante lo reportado por (Aguilar *et al*, 2009). En este sentido, se consideró un mínimo de



100 organismos medidos al azar por especie durante las 10 primeras semanas las cuales son consideradas como la etapa más crítica en cuanto a mortandad. Con los datos obtenidos se procedió al análisis de los mismos mediante un análisis de Varianza (ANOVA) y una prueba de Mann-Whitney con el programa estadístico Sigma Plot versión 11.0. Se realizaron gráficas comparando las temporadas reproductoras, número de huevos de la puesta; crecimiento y sobrevivencia.

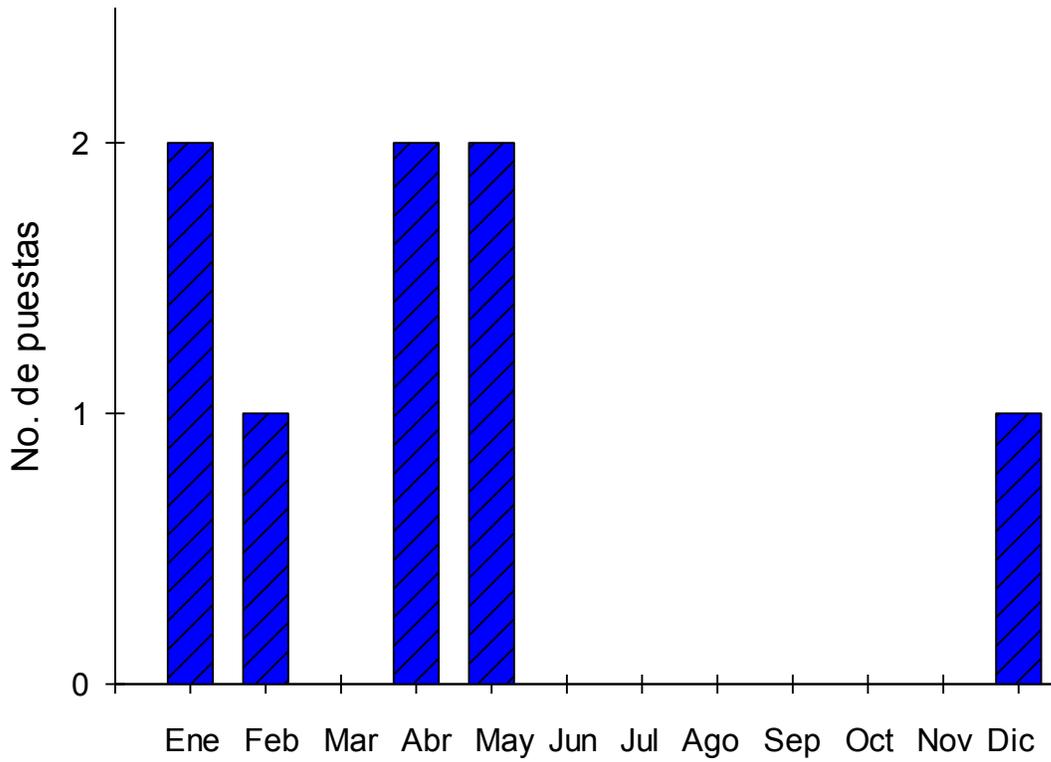


RESULTADOS

APAREAMIENTO Y NÚMERO DE PUESTAS:

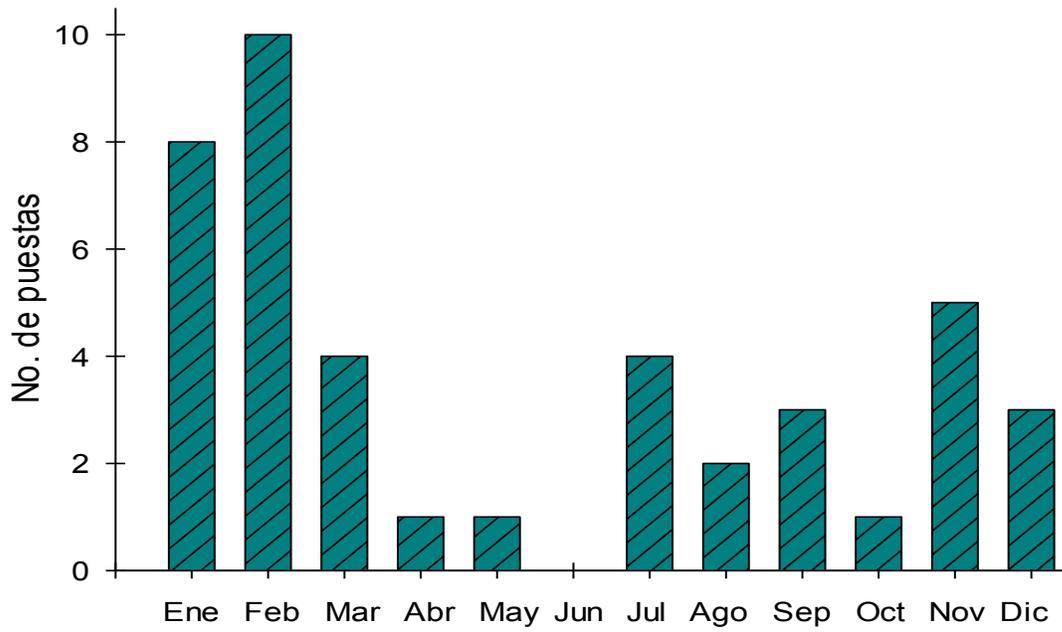
El comportamiento de apareamiento de las dos especies que tuvieron puesta las cuales fueron *A. granulosum* y *A. mexicanum*, fue difícil observarlo ya que no fue posible monitorear a las parejas durante todo el día, por lo que se presume pudo haberse dado durante la noche ya que cuando se revisaron, las puestas ya estaban presentes. Se obtuvieron dos puestas para *A. granulosum* en Enero, Abril y Mayo y una en Febrero y Diciembre (Fig 1). Mientras que para *A. mexicanum* (Fig 2); el número de puestas fue mayor con diez eventos en Febrero seguido de ocho en Enero, cinco en noviembre, cuatro en Marzo y Julio, en Septiembre y Diciembre tres, en Agosto dos y finalmente una en Abril, Mayo y Octubre; a excepción del mes de Junio en la que no se obtuvo ninguna como se puede observar en la Fig 2. Por lo tanto, para *A. mexicanum* se observaron puestas casi todo el año a excepción de Junio , mientras que en *A. granulosum* de Junio a Noviembre no se obtuvieron puestas y en el mes de Marzo tampoco (las puestas observadas corresponden a una pareja por evento observado).





A. granulorum

año 2009 a 2013



A. mexicanum

año 2009 a 2013 en donde se muestra que solo en el mes de Junio no hubo puesta.



Para *Ambystoma lermaense* no se observó dicho comportamiento de apareamiento aunque sí se han observado conductas de cortejo en los organismos con los que se cuenta en el laboratorio.

TAMAÑO DE PUESTA.

El tamaño de puesta mínimo para *A. granulosum* fue de 310 huevos en Mayo de 2013 y el máximo de 2242 en febrero de 2013 (Cuadro 1); para el caso de *A. mexicanum* el mínimo fué en Enero de 2013 con 51 huevos y el máximo en Octubre con 750 huevos. Para *A. lermaense* el mínimo fue de 110 huevos en septiembre de 2004 y el máximo de 1691 huevos en julio de 2003 (obtenido de Aguilar *et al*, 2009).

El tamaño de las puestas de los Ambystomas difirieron notablemente dependiendo de si las hembras fueron primerizas (Arias, *com. pers.*) o de la especie como se puede ver en los resultados del Cuadro 1 y Fig 3, 4 y 5. Sin embargo al aplicar las pruebas estadísticas (ANOVA) no se observan direncias significativas con un P= 1.000.

Cuadro 1. Tamaño de la puesta.

Especie	MES		Número de huevos	
	Mín	Máx	Mín	Máx
<i>A.granulosum</i>	Mayo	Enero	310	2242
<i>A. mexicanum</i>	Enero	Octubre	51	750
<i>A.lermaense</i>	Septiembre	Julio	110	1691



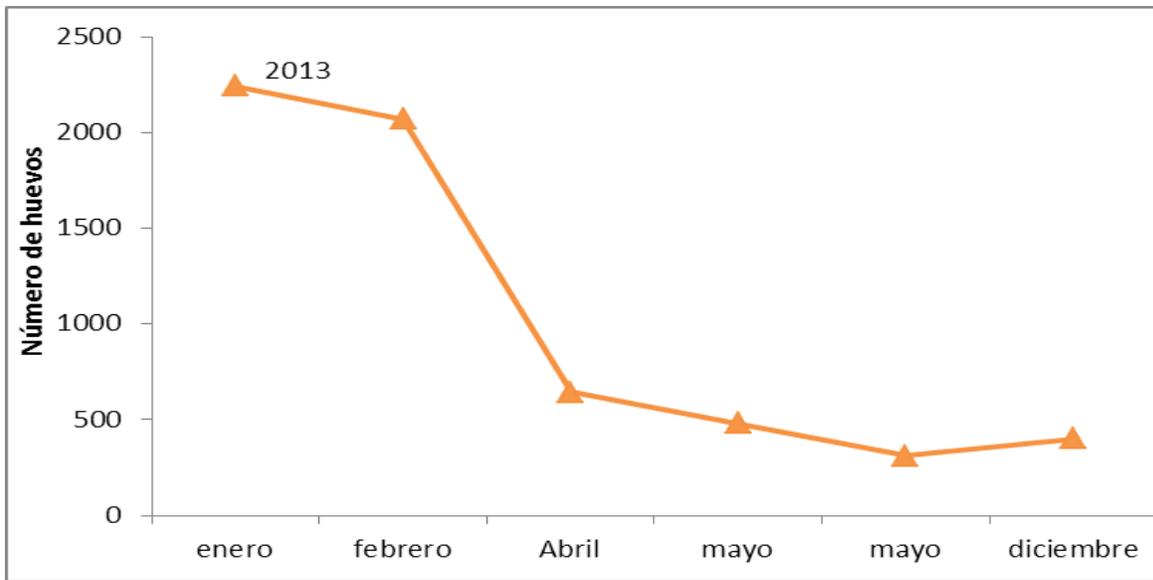


Figura 3. Tamaño de la puesta *A.granulosum* en el año 2013 donde se observa un mayor número de huevos en el mes de enero y un menor número en mayo.

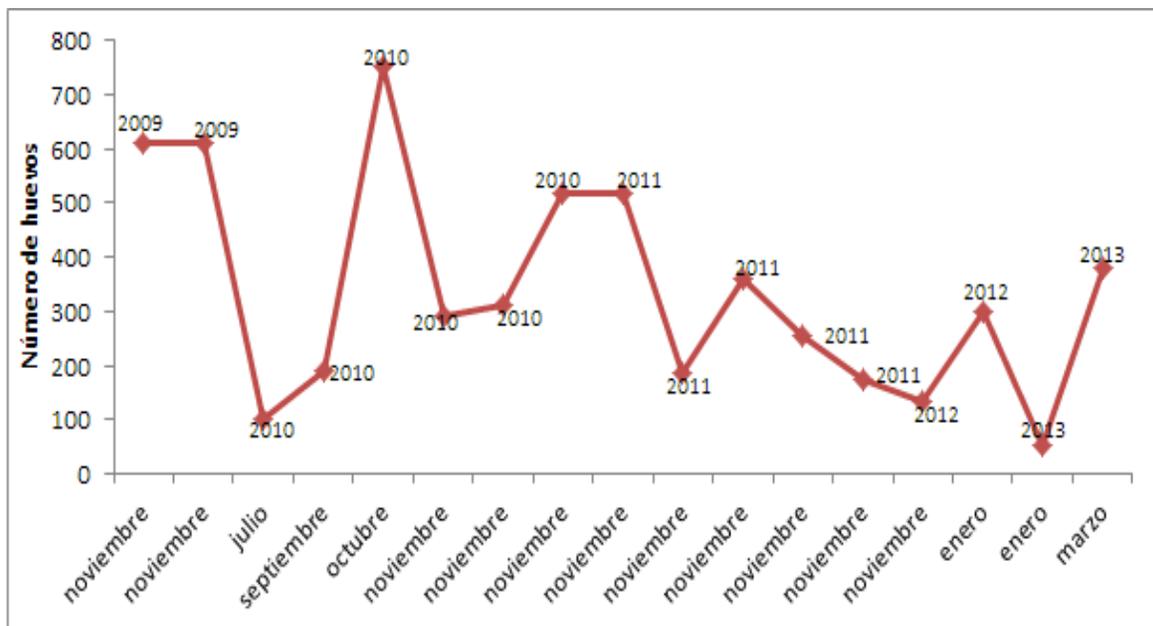


Figura 4. Tamaño de la puesta *A. mexicanum* del año 2009 a 2013 en donde se aprecia una gran variación en el tamaño de las mismas en cuatro años.



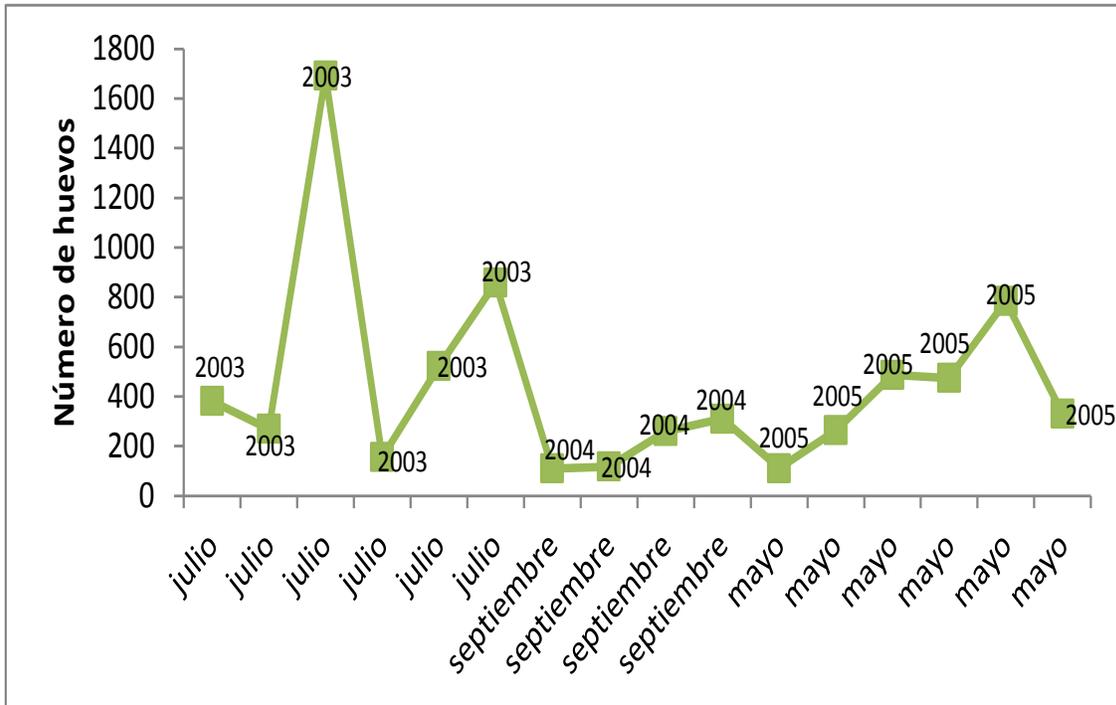


Figura 5. Tamaño de la puesta *A.lermaense* del año 2003 a 2005 (tomado de los datos publicados por Aguilar *et al*, 2009 en la que se observan el número de huevos por puesta inducidos por gonadotropina).

Tamaño de los alevines a la eclosión.

En el cuadro 2 se observa el promedio en el tamaño mínimo y máximo de los alevines en la eclosión para las tres especies.

Cuadro 2 .Diferencias mínimas y máximas en el tamaño en la eclosión para las tres especies.

Especie	Promedio del tamaño a la eclosión en mm	
	MIN	MAX
<i>A.granulosum</i>	15.72	24.21
<i>A. mexicanum</i>	18.99	24.49
<i>A.lermaense</i>	No se tienen datos.	



Crecimiento durante las 10 primeras semanas:

El crecimiento entre *Ambystoma granulosum* y *Ambystoma mexicanum* durante las 10 primeras semanas después de la eclosión, nos muestra (prueba de Mann-Whitney), que no hay diferencias significativas entre las dos especies, no obstante sí se observó que el tamaño de *A. granulosum* es más pequeño que *A. mexicanum* al principio; sin embargo, durante la primera semana logra crecer bastante (alrededor de 10 mm), mientras que *A. mexicanum* se mantiene sin grandes cambios aunque se aprecia un crecimiento constante con poca ganancia en mm. Esto mismo se observa para *A. granulosum* a partir de la segunda semana con poco crecimiento en ganancia hasta la quinta semana y se mantiene constante

Comparación de crecimiento entre ambas especies

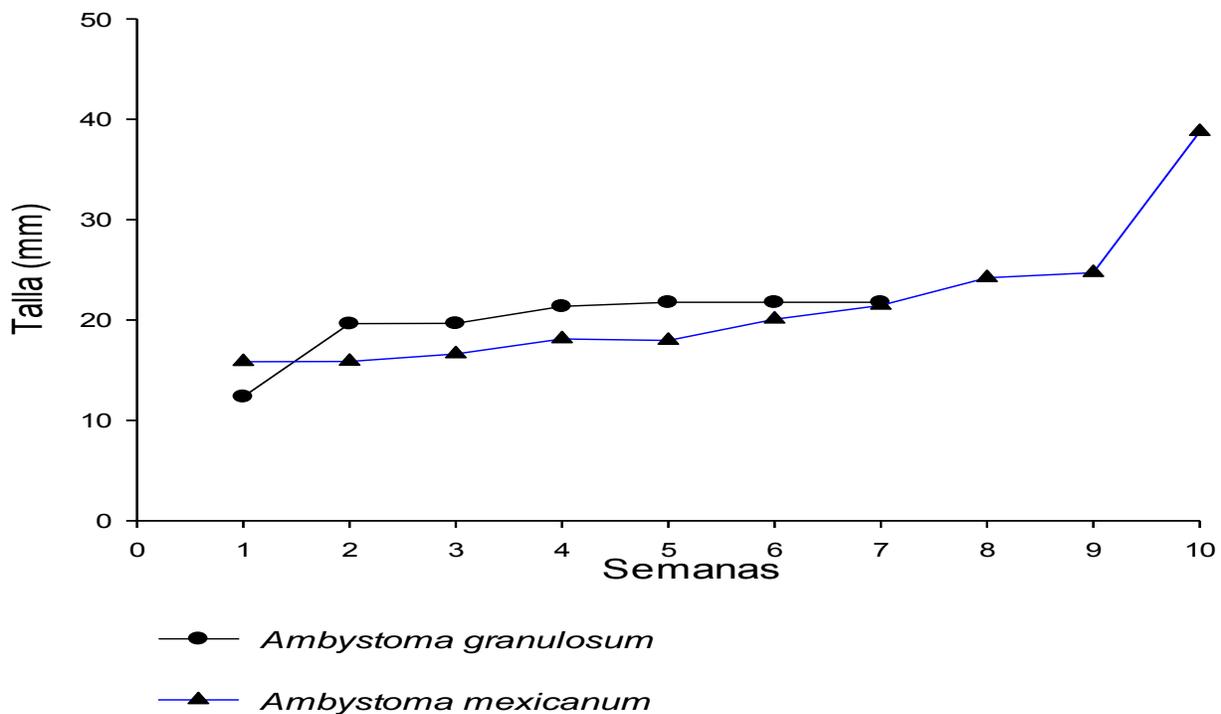


Figura 6. Comparación de crecimiento hasta la décima semana de la eclosión.



Sobrevivencia:

La sobrevivencia registrada para dos de las tres especies de *Ambystoma* durante este trabajo, fue que al principio se registraron pérdidas. Los alevines se mantuvieron con vida al menos durante los tres primeros meses de estudio con una cantidad considerable, después se registró una pérdida notable desde el tercer mes para ambas especies y al final quedó un número muy bajo tal como puede observar en las Figuras 7 y 8 así como en el Cuadro 3; para *A.granulosum* quedaron vivos 20 y para *A. mexicanum* quedaron 25 vivos. Sin embargo, el comportamiento de sobrevivencia es muy similar en ambas especies esto lo muestra la prueba de Mann-Whitney ($P=0.413$), donde no se encontraron diferencias significativas.

Cuadro 3. Sobrevivencia: tamaño inicial y final.

<i>A.granulosum</i>	comienzo	final
ene-15	333	20
<i>A.mexicanum</i>	comienzo	final
feb-15	293	25



Ambystoma granulosum

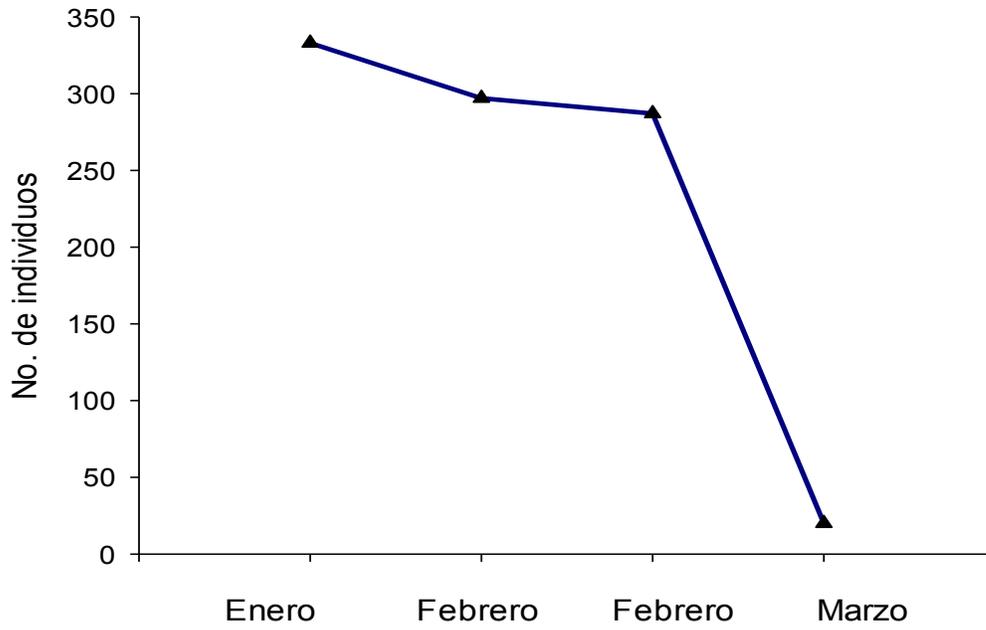


Figura 7. Sobrevivencia de *Ambystoma granulosum* en la que se observa la cantidad final de 20 individuos.

Ambystoma mexicanum

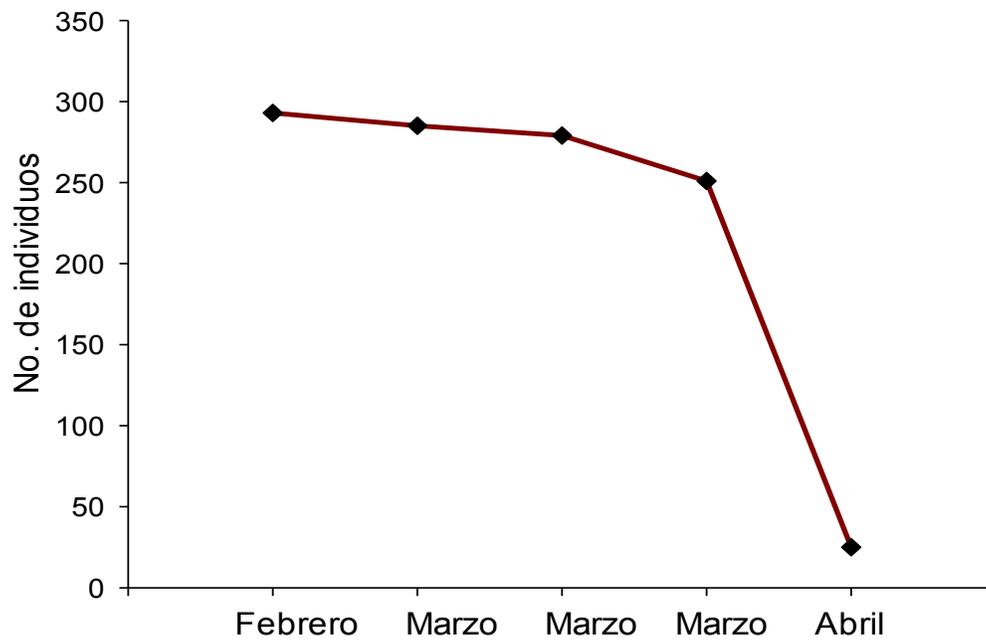


Figura 8. Sobrevivencia de *A. mexicanum* en la que se observa la cantidad final de 25 individuos.



Época de reproducción.

En lo que respecta a la temporada de reproducción, se obtuvo que las tres especies varían bastante en los meses en los que se obtuvieron puestas en condiciones de laboratorio como el caso de *A.lermaense* (tomado de Aguilar *et al.*, 2009), ya que no se presentaron para ésta especie dentro del laboratorio; sin embargo, en la figura 9 se puede observar el contraste con respecto a las otras dos especies de las cuales si se obtuvieron puestas dentro del laboratorio de Herpetología. Se observa además que tanto *A.granulosum* como *A. mexicanum* abarcaron más meses que *A.lermaense* en cuanto a su reproducción.

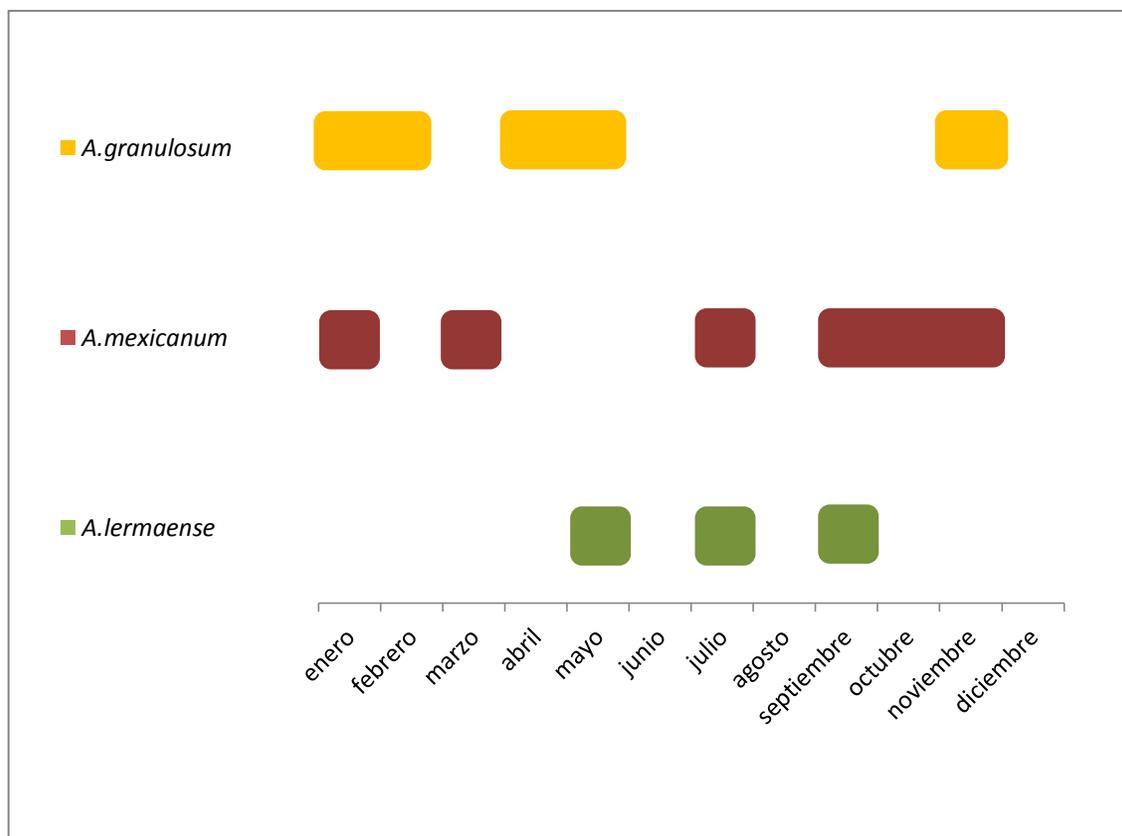


Figura 9. Temporada reproductiva de las tres especies de Ambystoma estudiadas en este trabajo en las que solamente se observan los meses en los que se obtuvo puestas.



Discusión

El comportamiento de apareamiento se da siempre por parte del macho a la hembra el cual realiza unos movimientos cerca de ella para que ésta pueda estar cerca de su cloaca y enseguida éste deposita el o los espermatozoides para que la hembra pueda recogerlos y entonces se lleve a cabo la fecundación (Duhon, 1994). Dicho comportamiento no pudo ser observado ya que no fue posible el monitoreo durante las 24 horas; pero la evidencia más clara de que este se manifestó fue que se encontraron las puestas al día siguiente.

Para inducir el ciclo de reproducción, los fotoperíodos juegan un rol muy importante; la luz al inhibir la actividad de la pineal quita el freno sobre el hipotálamo permitiendo a las neuronas localizadas en el septum medial y diencéfalo anterior, la secreción de una hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) similar a la de los mamíferos (Miranda *et al.*, 1998) por lo cual se optó por mantener un fotoperíodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad para estimular la liberación de estas hormonas y así poder inducir naturalmente su reproducción.

Número de puestas:

El número de puestas de las distintas especies fue muy diferente ya que los organismos que se tienen en el laboratorio han nacido ahí a excepción de *A. lermaense* por lo que se piensa que las distintas condiciones del laboratorio son muy diferentes a las de su medio natural con lo cual haría falta ir a los distintos hábitats de cada especie para tomar dichos datos como temperatura, humedad época de lluvia etc, ya que según (Duellman y Trueb, 1986) estas características siempre influyen en la reproducción de los anfibios, para hacer una comparación más exhaustiva del porque es que varían las épocas en las que se reproducen así como también hubiera sido una buena comparación o correlación el tomar en cuenta si reservan lípidos las hembras antes de la reproducción, ya que se pueden hacer estudios de la cantidad de folículos ováricos de las gónadas en las épocas de reproducción, esto no llega a ser tan factible ya que como se sabe son



especies en peligro de extinción así que no se puede optar por hacer estudios fisiológicos en donde se deban sacrificar organismos de estas especies.

El tamaño a la eclosión pudo haber estado relacionado con la cantidad de alimento que consumieron las hembras antes de la época de reproducción sin embargo a todas se les administró la misma cantidad de alimento (5 grillos cada 3 días) por lo que otros factores pudieron estar involucrados tales como que la especie tenga en sí una cantidad promedio de huevos que llegan a poner pudiendo existir la posibilidad de que el tamaño de las hembras esté involucrado.

Tamaño a la eclosión y Crecimiento.

El crecimiento de los alevines difirió bastante entre cada especie y esto pudo deberse a la competencia por el alimento principalmente, ya que algunos obtenían mas de éste, en muchos casos se observaron conductas de agresión, incluso canibalismo, lo cual coincide con (Semlitsch, 1987) que indica que la agresión intraespecífica y el canibalismo son comunes en *Ambystoma talpoideum* y aunque no corresponde a la misma especie, si es característica del género *Ambystoma*, lo cual indica que es común que ocurra este fenómeno entre organismos de la misma puesta así como entre puestas diferentes. Además el canibalismo es más probable en organismos cuando existe una diferencia en el tamaño entre miembros de la población (Collins 1984), lo cual coincide con todas las puestas observadas durante el presente trabajo.

Las ventajas del crecimiento permitidas por la eclosión temprana puede ser crítica, especialmente cuando el crecimiento, desarrollo y sobrevivencia son dependientes de la densidad y la competencia inter e intra-específica como se representa con las salamandras de la familia Ambystomatidae (Semlitsch and Reichling 1989; Scott 1990; Boone *et al.* 2002).



La diferencia de crecimiento entre las especies *A.mexicanum* y *A.granulosum* se pudo observar de manera notable ya que *A.granulosum* tuvo un crecimiento rápido en las primeras dos semanas mientras que *A.mexicanum* tuvo un crecimiento similar hasta la semana 10. Pero estadísticamente hablando al realizar la prueba de Mann-Whitney no hay diferencias significativas entre las dos especies.

Sobrevivencia

En cuanto a la sobrevivencia se observó que no todos los huevos eclosionan al mismo tiempo y de manera similar a lo reportado en *A.maculatum* pudo deberse a que se produce una presión sobre los organismos a eclosionar antes de tiempo debido a la presencia de un posible depredador (estos depredadores pudieron haber sido individuos de su misma especie como lo mencionado anteriormente) o a algún cambio en el ambiente (Gómez *et al*, 2006).

Muchos organismos experimentan altos rangos de mortalidad en sus etapas de vida temprana como consecuencia de la depredación, de la infección o condiciones abióticas severas (Gosselin and Qian, 1997), aunque en este estudio se consideró que se mantuvieron estables las condiciones del agua ya que los cambios de ésta eran muy constantes no se cree que la alta mortandad sea debido solo a este factor sino a otros factores como la *Saprolegnia sp* y quizás también por un exceso de alimento o por las malas condiciones de éste o la competencia intraespecífica.

Se observó que los huevos que se tornaban de color blanco, ya no eran viables ya que estos no pasaban por la fase de división (mórula) y propiciaban la formación de hongos (*Saprolegnia sp*) razón por la cual eran desechados ya que éstos pudieran llegar a infectar a otros y provocar diversos daños debido a que el moho de la familia *Saprolegniaceae* causa una mortalidad sustancial para los huevos acuáticos en peces y anfibios (Gómez *et al* 2006).



La sobrevivencia en general fue baja como se puede observar en el Cuadro 3 de los resultados ya que para *A. granulatum* solo sobrevivieron 20 mientras que para *A. mexicanum* solo sobrevivieron 25, sin embargo, se logró mantener con vida a esta cantidad de individuos por lo menos durante los primeros tres meses. La prueba estadística de Mann-Whitney para estos dos grupos no mostró diferencias significativas entre ambos por lo que se deduce que la sobrevivencia es igual para los grupos, eso nos da una idea de la vulnerabilidad de estas especies durante etapas tempranas de su vida y que sin embargo, puede resultar similar el aprovechamiento de ambas especies en cuanto a proyectos de alimentación en etapas tempranas, o bien, en aspectos a considerarse durante posibles introducciones y reintroducciones.

En concordancia con lo analizado (Maya, 2006) menciona que los anfibios en general depositan un gran número de huevos, lo cual sugiere que tienen una alta mortalidad en los estadios larvales (Anderson, J.D. *et al* 1971), este tipo de estrategia de reproducción está representada por curvas del tipo III, que pueden presentarse en organismos como *Rana sylvatica* (Anderson, J.D. *op. cit*), no obstante, Petranka (1989), encontró que para poblaciones silvestres de *Ambystoma* sp las curvas más características son del tipo II, aunque también pueden presentarse otros tipos diferentes.

Temporada reproductiva

Como se pudo observar en la Fig 9, las tres especies tienen puestas en meses distintos del año esto puede ser debido a que las propias condiciones de laboratorio fuera de su medio ambiente natural afectó las temporadas regulares de reproducción ya que en varias ocasiones los anfibios en general son afectados específicamente en el sentido reproductivo por las temporadas de lluvia y horas luz a las que están expuestos así como también a su medio natural.



Duellman y Trueb (1984) dicen que los patrones anuales de algunas especies de *Ambystoma sp* son diferentes debido a las diferencias estacionales de temperatura y lluvia en Norte América. La actividad de reproducción es iniciada por la lluvia en las poblaciones costeras de *Ambystoma macrodactylum* en California pero la reproducción en las poblaciones montañosas de la misma especie tiene lugar con el incremento de la temperatura.

Según Rothermel, 2006, el cual comparó las temporadas reproductivas en *Ambystoma maculatum* y *Ambystoma opacum*, encontró diferencias en las temporadas en que estos se reproducen ya que *A. opacum* se reproduce en otoño migrando a las pozas en las que se reproducen dejando sus huevos en la orilla los cuales permanecen ahí durante algún tiempo hasta que las lluvias de invierno llenan la poza inundando el nido entonces estos eclosionan, mientras que las salamandras moteadas *A. maculatum* migran hacia las pozas para reproducirse en el invierno tardío o inicios de primavera cuando la temperatura aumenta ligeramente. Además algunas salamandras jaspeadas metamorfosean y comienzan a vivir en las fosas tiempo antes que las salamandras moteadas; las salamandras moteadas postmetamórficas requieren de dos a tres años para madurar sexualmente mientras que las salamandras jaspeadas de uno a cinco años (Petranka 1998), lo cual nos da una idea de que el ciclo reproductivo en el caso de *A. lermaense* se pudo haber alterado ya que las condiciones dentro del laboratorio son distintas de las de medio natural por lo que en el caso de los tres organismos que metamorfosearon de ésta especie se pudieron haber estresado ya sea por las condiciones ambientales o por la competencia entre ellos.



Conclusiones:

- ♣ No se pudo observar el apareamiento en *A.granulosum* y *A.mexicanum* pero hubo comportamiento de cortejo en *A.lermaense*.
- ♣ El número de puestas obtenidas para *A. granulosum* fue de 8 durante el año 2013.
- ♣ El número de puestas obtenidas para *A. mexicanum* fue de 42 del año 2009 a 2013.
- ♣ El tamaño de puesta mínimo para *A. granulosum* fue de 310 huevos en Mayo de 2013 y el máximo de 2242 en febrero de 2013.
- ♣ El tamaño de puesta mínimo para *A. mexicanum* fue de 51 huevos en Enero de 2013 y el máximo en Octubre con 750 huevos.
- ♣ Para *Ambystoma lermaense* no se observaron puestas dentro del laboratorio de Herpetología.
- ♣ El tamaño promedio a la eclosión de los alevines fué de 8.05 mm para *A.granulosum* y de 13.72 mm para *A.mexicanum*.
- ♣ No se muestran diferencias significativas en el tamaño de puesta entre *A. mexicanum* y *A. granulosum*.
- ♣ El crecimiento y la sobrevivencia tampoco arrojó diferencias significativas entre las especies *A. granulosum* y *A. mexicanum*.
- ♣ Las temporadas de reproducción fueron muy distintas entre las especies; *A.mexicanum* abarcó un periodo más extenso en el año de 7 meses no consecutivos seguido por *A. granulosum* con 5 meses y por último *A. lermaense* con apenas 3 meses.



Literatura citada

Alarcon, F.J. y Flores,P, B. 1987.Cría del ajolote *Ambystoma mexicanum* en el laboratorio: formación de una colonia de ajolotes(Tesis de Licenciatura).UAM Iztapalapa.

Aguilar-Miguel, X., G. Casas-Andreu & Legorreta, G. B. 2009. Reproducción ex situ en *Ambystoma granulatum* y *Ambystoma lermaense* (Amphibia: Ambystomatidae).*Act,Zool,Mex.*25 (3).

Anderson J.D, Hassinger D.D y Dalrymple G.D.1971.Natural mortality of eggs and larvae of *Ambystoma trigrinum*. Ecological society of America.52(6).

Blaustein,A.2005. Amphibian declines the conservation status of the United States species,University of California press,1077pp.

Chaparro,D.2007.Biología de la alimentación de *Ambystoma mexicanum*: implicaciones para su conservación(Tesis de Maestría).UNAM.77pp.

Collins J. P. y Holomuzki, J. R. (1984) Intraspecific variation in diet within and between trophic morphs in larval tiger salamanders (*Ambystoma tigrinum nebulosum*). Can J Zool 62:168–174.

Colon-Gaud, C., Whiles, M. R., Kilham, S. S., Lips, K. R., Pringle, C. M. and Conelly. S. 2009. Assessing ecological responses to catastrophic amphibian declines: Patterns of macroinvertebrate production and food web structure in upland Panamanian streams. The American Society of Limnology and Oceanography 54:331-334.

Duellman,W. E. y L.Trueb. 1986. *Biology of amphibians*. McGraw-Hill, NuevaYork, 670 pp.

Duellman,W.E. y L.Trueb 1994. *Biology of amphibians*. The Johns Hopkins University Press. Baltimore and London.613pp.



- Duhon,S.1994.Short guide to axolotl husbandry .Indiana University Press.
- Diario Oficial de la Federación. 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.
- Gosselin,L.A.,and P.-Y.Qian.1997.Juvenile mortality in benthic marine invertebrates. *Marine Ecology Progress Series*,146:265–282.
- Gómez, I;Touchon, J;Warkentin K.2006. Amphibian embryo and parental defenses and a larval predator reduce egg mortality from water mold.*Ecology*,87(10).
- Gibbons, J. W., Stangel, P.W. 1999. *Conserving amphibians and reptiles in the new millennium*. Proceedings of the Partners in Amphibian and Reptile Conservation (PARC) Conference. Savannah River Ecology Laboratory *Herp Outreach Publication*. No. 2, Aitken, South Carolina.
- IUCN. 2011. IUCN Red list of threatened species. Version 2011.1
- Miranda L.A., Paz D.A., Affanni J.M., Somoza G.M. (1998a) . Identification and neuroanatomical distribution of immunoreactivity form a mamalian gonadotropin-releasing hormone (m GnRH) in the brain and neural hypophyseal lobe of the toad *Bufo arenarum*. *Cell Tissue Res*. 293: 419- 425.
- Maya,G.2006.Aspectos de mantenimiento y desarrollo en cautiverio del ajolote mexicano (*Ambystoma mexicanum*) UNAM.Facultad de estudios superiores iztacala.
- Mena,H. y Servín,E.,2014.Manual Básico para el cuidado en cautiverio del ajolote de Xochimilco,Instituto de Biología,UNAM.México.37pp.
- Mendoza, C. García, C. Vanegas, R. 2009.Maintenance media for the Axolotl *Ambystoma mexicanum* juveniles (Amphibia:Caudata) *Hidrobiológica*.19.205-210.



Otto, E.1997.Conservación del ajolote (*Ambystoma mexicanum*) mediante su cultivo y siembra en el parque ecologico de Xochimilco. Patronato del parque ecologico de Xochimilco AC. Informe final SNIB-CONABIO proyecto número J087.

Parra, G .2014. Biodiversidad de anfibios en México, Revista Mexicana de Biodiversidad (85).461-466.

Petranka, J.W. (1989) Density-dependent growth and survivorship of larval *Ambystoma*: evidence from whole pond manipulations. *Ecology* 70:229–234.

Petranka, J.W. 1998. Salamanders of the United States and Canada. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C.

Rothelment B.B y Semlistch R.D .2006.Consequences of forest fragmentation for juvenil survival in spotted(*Ambystoma maculatum*) and marbled (*Ambystoma opacum*) salamanders.

Salthe, S. E. 1969. Reproductive modes and the number and sizes of ova in the Urodeles. *The American Midland Naturalist* 81:467–490.

Shaffer, H.B. 1989. Natural history, ecology and evolution of the Mexican “Axolotls”. *Axolotl Newsletter* (18): 5-11.

Semlitsch, R.D. 1987. Paedomorphosis in *Ambystoma talpoideum*: effects of density, food, and pond drying. *Ecology* 68:994–1002.

Taylor, E. H. 1940. A new *Rhyacosiredon* (Caudata) from Western Mexico. *Herpetological* 1 (7): 171 – 175.

Velarde , T. 2011. Importancia ecológica y cultural de una especie endemica de ajolote (*Ambystoma dumerilii*) del lago de Pátzcuaro Michoacán. 102pp.

Wake,D.1991.Declining amphibian populations.*Science*,(5022):860.



Anexo.

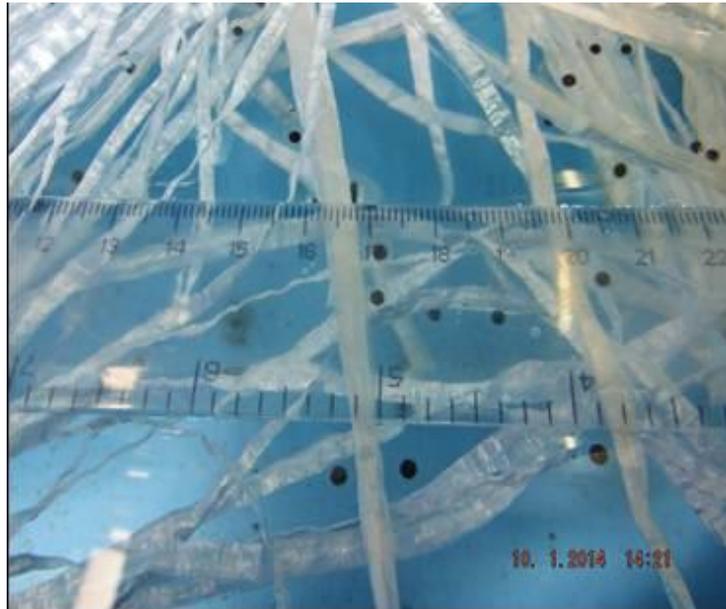


Figura 1 anexo. Zoom de puesta con rafia en color blanco los puntos negros son los huevos.

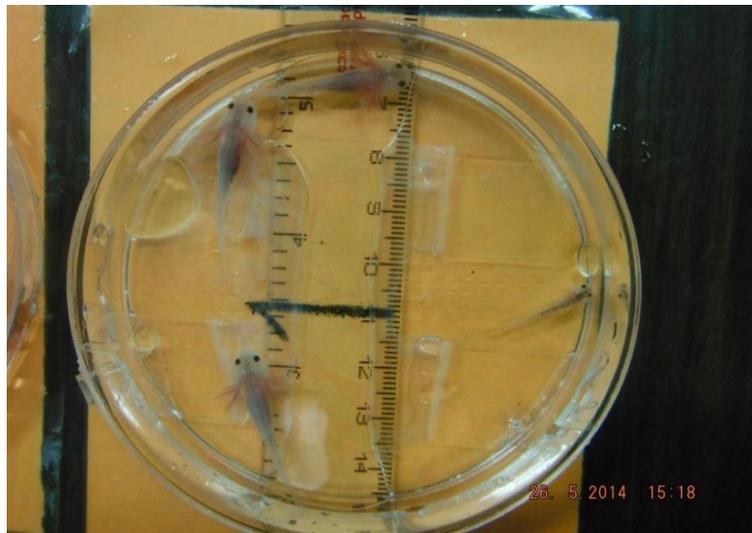


Figura 2 anexo. Caja petri con alevines y regla el número debajo indica el número de repetición.



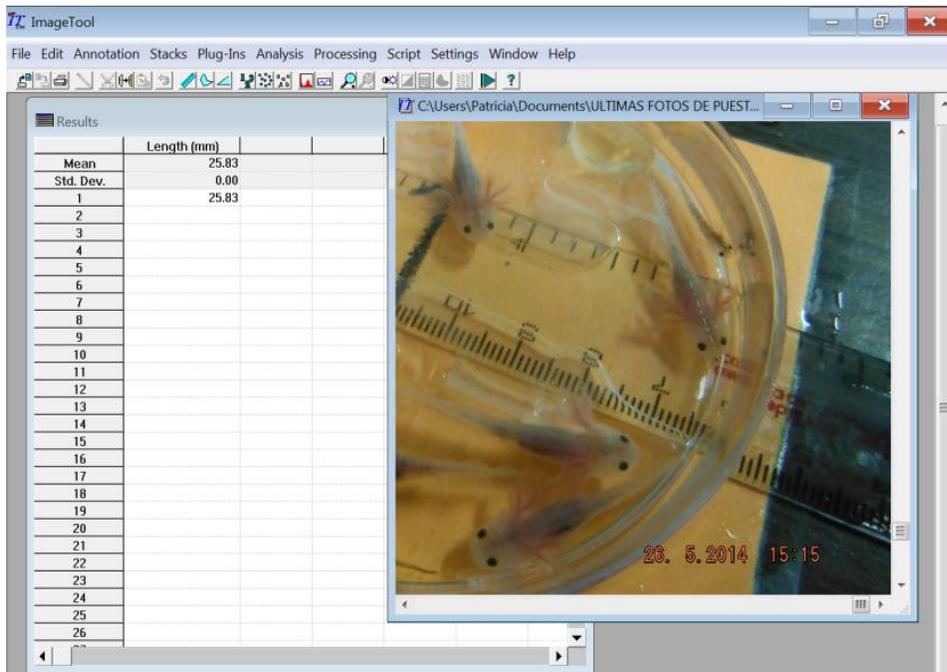


Figura 3 anexo. Foto en *Image tool* obteniendo la medida de los alevines.



Figura 4 anexo Diferencia en la velocidad de desarrollo en una puesta intraespecífica.

