





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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

REPRODUCCIÓN Y CRECIMIENTO DE AJOLOTE GRANULADO EN CAUTIVERIO (Urodela: Ambystomatidae: *Ambystoma granulosum*)

TESIS

Que para obtener el título de:

BIÓLOGA

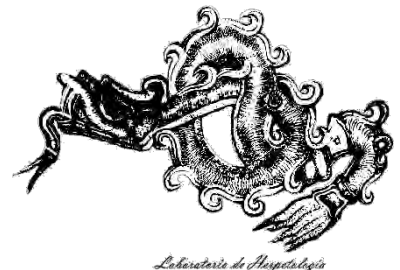
Presenta

Sylvia Socorro Gómez-Sánchez

Director de Tesis:

Biólogo Raúl Rivera Velázquez

Los Reyes Iztacala, Edo. De México 2016



Laboratorio de Herpetología

A mi madre Sylvia con todo mi amor

A Ernesto, mi hilo rojo.

A mis faunos: Izumy, Víctor y Diana.

A mis hermanas: Laura, Sio, Shammy, Ale Atrox y Lizeth

A mis hermanos: Axel, Fer, Salo, David, Aldo, Toño y Martín.

AGRADECIMIENTOS

A mi madre, por todo el apoyo que siempre me ha brindado, porque sin ella, yo no habría llegado a donde estoy ahora. Por ser esa persona incondicional en mi vida y por ser el pilar de todo lo que conozco. Te amo con todo mi ser, eres mi ejemplo a seguir.

A mi marido Ernesto, por llevarme y traerme, por aguantar mis desveladas, mis frustraciones, mis enojos cuando algo no salía como quería, por acompañarme y por creer siempre en mí. Simplemente, por siempre estar. Te amo por siempre y para siempre, y estoy orgullosa de ti.

A mis faunos por impulsarme a seguir adelante, a no dejar la Tesis, por decirme que: si podía y compartirme sus experiencias durante la carrera, por ser mi ejemplo, mi apoyo por ser parte de mi vida. Los amo y admiro por todo lo que han logrado.

A todos mis hermanos, porque, aunque fui hija única, ustedes me enseñaron que la familia también se crea en el camino. Por estar al pendiente, por impulsarme a seguir y apoyar mis decisiones. Los amo infinitamente.

A la familia que me dio mi hermano Martín y a su mami Bety, en paz descansen, al Capi Martín por revisar mi Tesis y a mi hermanita Shammy por ayudarme a hacer bonita mi presentación. Gracias por adoptarme en su familia.

A mi familia por preguntar ¿Cómo va la Tesis? tan seguido, que ya me daban ganas de no verlos, al saber que no había avanzado y por estar ahí siempre, en las buenas y en las malas.

Al Biólogo Tomás Villamar del Bioterio de la F. E. S. por encaminarme al Vivario, donde conocí a Rivera los reptiles, de los que me enamoré y presentarme a mi asesor.

A mi asesor, el Biólogo Raúl Rivera, quien, pese al tiempo que deje olvidada la Tesis, a las complicaciones de tiempo que se presentaron por el trabajo y muchas cosas más, siempre me apoyó, me dejó utilizar sus fotos y fue mi guía para poder concluir satisfactoriamente este trabajo. Además de convertirse en un amigo para mí.

A mis sinodales la Dra. Patricia Ramirez, los M. en C. Sandra Arias, Felipe Correa y Rodolfo García, por revisar y corregir mi trabajo y darme consejos al respecto, pero sobre todo a Sandriux por guiarme en el manejo de los datos, invitarme a sus salidas al campo y compartirme su experiencia con anfibios.

A los chicos del Ajolotario: César Cortés, Noé Gordillo y Julio Segundo, por ayudarme con el mantenimiento de los miles de ajolotitos que tuvimos que sacar adelante, por acompañarme a campo y sobrevivir el susto de la carretera, por los buenos y malos ratos que pasamos, pero sobre todo por compartir el mismo objetivo, instaurar y hacer crecer la colonia de *Ambystoma Granulosum*.

A la UNAM por ser la institución en la que me gané un lugar y me recibió con puertas abiertas.

Al Laboratorio de Herpetología (Vivario) que desde el principio de mi carrera me acogió y me brindó conocimiento, experiencia y grandes amistades. Además de ser el lugar que se convirtió en mi segunda casa, donde pasaba las horas trabajando con mis bichos y el refugio al que recurría en las buenas y las malas. Por darme los recursos necesarios para este trabajo y el apoyo de todos los que ahí laboran.

A Jiei Mexicana y en especial a mi amigo y jefe Antonio Gutiérrez por darme la facilidad de acudir a mis asesorías, de ir a realizar los trámites necesarios e impulsarme a terminar este trabajo, porque sin ese apoyo esto no sería posible.

*El amor por todas las criaturas vivientes, es
el más noble atributo del hombre*

Charles Darwin

ÍNDICE

Resumen	1
Introducción	2
Orden Urodela.....	5
Familia Ambystomatidae	7
Descripción de la especie.....	9
Distribución.....	13
Antecedentes.....	15
Justificación	17
Objetivos.....	18
Materiales y métodos.....	19
Resultados.....	25
Condiciones.....	25
Reproducción	26
Crecimiento	28
Mortalidad.....	34
Discusión	36
Conclusión.....	41
Recomendaciones	43
Referencias	44

RESUMEN

En el tema de la biodiversidad, México es considerado un país megadiverso, por albergar al menos el 12% de las formas de vida del planeta y el quinto país con más diversidad de anfibios a nivel mundial después de Brasil, Colombia, Ecuador y Perú. Durante los últimos años a escala mundial, se ha presentado una gran crisis por la rapidez en que se presenta la extinción de especies y se ha comenzado a buscar estrategias para preservarlas fuera de su hábitat natural (*ex situ*).

Ambystoma granulosum es un urodelo endémico de las Ciénegas de Lerma que ha sido poco estudiado y se encuentra bajo la clasificación de Protección Especial en la NOM-059-SEMARNAT-2010, debido a que la extensión y calidad de su hábitat está en declive.

Es por esto que se estudiaron los aspectos reproductivos, los cuales resultan cruciales para su conservación. Colocando 17 organismos distribuidos en peceras, logrando una reproducción exitosa en condiciones de laboratorio, controlando solamente los factores físicos como la temperatura, volumen y calidad del agua, fotoperiodo y alimentación. Encontrando que cuenta con ciclo reproductivo continuo, su tamaño de puesta promedio es de 1150 ± 929 huevos por hembra, con 15 días promedios a la eclosión, y su crecimiento fue similar en los diferentes tratamientos (24, 12 y 6 organismos. Asimismo, se observó canibalismo en la especie, el cual ha sido estudiado en otros organismos del mismo género como *A. mexicanum* o *A. laterale* y pese a ser intrínseco al cautiverio, debe considerarse importante, ya que influye positivamente en el crecimiento de los organismos, sin embargo, al buscar un mantenimiento exitoso en cautiverio, éste debe evitarse porque impacta a la población.

Palabras clave: *Ambystoma granulosum*, reproducción, crecimiento, *ex situ*, canibalismo.

INTRODUCCIÓN

La importancia de que México sea uno de los más importantes centros de diversidad de especies vivas del planeta, trae consigo una gran responsabilidad, ya que es considerado un país megadiverso por albergar al menos el 12% de las formas de vida. Los anfibios constituyen un grupo de vertebrados con una diversidad total de 7187 especies, de las cuales el 5.23% (376 especies) están presentes en México, posicionándolo en quinto lugar a nivel mundial después de Brasil, Colombia, Ecuador y Perú. (Parra-Olea *et al.*, 2014).

Debido a la importancia del tema se consideró conveniente hacer una descripción de la especie objeto de estudio para establecer puntualmente la relevancia e importancia de este en la biodiversidad y sobre todo en las especies endémicas de México.

Los anfibios son vertebrados caracterizados por tener una piel permeable, húmeda y libre de escamas. Dichos organismos se encuentran clasificados en tres órdenes: Anura (ranas y sapos), Urodela (ajolotes y salamandras) y Gymnophiona (cecilias). En general presentan dos etapas en su ciclo de vida: acuático (huevos y larvas) y terrestres (adultos transformados). La mayoría de estos tienen su reproducción asociada a cuerpos de agua, debido a que pueden presentar fecundación externa o transferencia del esperma, por una estructura denominada espermatóforo (sólo urodelos; Pough *et al.*, 2001).

México cuenta con un total de 16 familias con representantes de los tres órdenes. Las salamandras de la familia Plethodontidae con 117 especies son la familia más diversa de anfibios, seguida por la familia Hylidae con 96. En general, el nivel de endemismo es muy alto, ya que siete de las 16 familias presentes en México, contienen más de

un 50% de especies endémicas para el país, incluyendo siete géneros (tres de anuros y cuatro de urodelos) (Parra-Olea *et al.*, 2014)

Actualmente los anfibios sufren la peor crisis de extinción de toda su historia (Wake y Vredenburg, 2008); se considera que de los anfibios de México, 164 especies están amenazadas o críticamente amenazadas, lo cual equivale al 43% de la diversidad total. Cuarenta y dos especies son vulnerables y para un 14% de las especies no se tiene suficiente información para asignarlas a una categoría (IUCN, 2009 y Parra-Olea *et al.*, 2014). En la clasificación mexicana hecha por la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010), se encuentran 194 especies sujetas a protección, de las cuales, dos son del orden Gymnophiona, 87 de Urodela y 105 de anura.

Los factores identificados como causantes del declive de anfibios son de diferente índole: antropogénicos, como la destrucción de hábitat, sobrexplotación, introducción de especies exóticas; así como el efecto del cambio climático global o bien las enfermedades infecciosas emergentes (Collins y Storfer, 2003; Daszak *et al.*, 2003). Sin embargo, en el análisis llevado a cabo por la IUCN en 2009, se determinó que con certeza el factor más importante para la disminución de las poblaciones de anfibios mexicanos era sin duda la deforestación y transformación de la vegetación. Esto debido a la susceptibilidad de estos organismos por sus características morfológicas, principalmente la permeabilidad de su piel y al hecho de que su ciclo de vida es dual, tanto acuático (huevos y larvas) como terrestre (adultos transformados) (Matton, 2000).

Para combatir el fenómeno de extinción que se presenta, se han desarrollado planes de conservación. Una de las principales estrategias es la reproducción *ex situ*, la cual aseguraría la

variabilidad genética de las especies en el tiempo (bancos de germoplasma), ya que la mayoría de las especies sufre amenazas de extinción en su propio medio; otra opción es la conservación *in situ*, la cual permitiría la evolución y la coevolución natural de las especies. La integración de los sistemas de conservación en los planes de desarrollo sustentable regional, con la participación de las comunidades locales, permitirían garantizar la conservación de la biodiversidad en el tiempo y su aprovechamiento sostenible al otorgar nuevas alternativas para el desarrollo (Squeo, *et al.*, 2001).

Por otro lado, se sabe que el tamaño poblacional de la mayoría de las especies es mantenido dentro de sus límites probablemente por procesos de denso-dependencia (Klomp, 1962). Esta suele afectar la talla de los organismos; este efecto se ha estudiado durante varios años a través de diferentes experimentos, los cuales indican que la densidad limita el crecimiento y la sobrevivencia de los anfibios (Wilbur, 1972; Doty, 1978; Stenhouse *et al.*, 1983; Petranka y Sih, 1986; Petranka, 1989; Scott, 1990 y Smith, 1990). El impacto de la densidad interactúa directamente con los factores ambientales de formas que aún no comprendemos del todo, por ejemplo: una consecuencia general de las altas densidades de población es el decremento de la tasa de crecimiento, lo cual a su vez alarga la exposición a depredadores y evidencian las condiciones ambientales desfavorables que ocurren en el hábitat acuático de las larvas (Petranka y Sih, 1986 y Wilbur, 1987, 1988).

Debido a la existencia de una gran cantidad de estrategias reproductivas de los anfibios, es importante estudiar por separado a las familias y, en algunos casos, hasta a las especies (Duellman y Trueb, 1994).

ORDEN URODELA

El orden Urodela, como se mencionó antes, incluye a todos los ajolotes y salamandras y está constituido por nueve familias (*Ambystomatidae*, *Plethodontidae*, *Sirenidae*, *Salamandridae*, *Amphiumidae*, *Proteidae*, *Dicamptodontidae*, *Rhyacotritonidae*, *Cryptobranchidae*). Su distribución es holártica y cuenta con alrededor de 655 especies (Parra-Olea *et al.*, 2014). En estos anfibios existen diferentes formas de vida, algunos son terrestres y otros de vida acuática (Pough *et al.*, 2001).

Dentro de este orden, se presentan dos principales fases de desarrollo:

- Metamórficos: el organismo adulto pierde los atributos asociados a la vida acuática, como lo son las branquias y las aletas.
- Paedomórficos o neoténicos: el organismo adulto retiene las características juveniles (Shaffer, 1984)

La paedomorfosis o neotenia se ha definido como una forma derivada del desarrollo en la cual existe ausencia de metamorfosis manteniendo rasgos larvarios (branquias y aperturas branquiales) en la etapa adulta y se considera como una adaptación a un ciclo de vida enteramente acuático (Voss y Shaffer, 1997). Este último tipo de ciclo de vida se presenta en familias acuáticas como *Sirenidae*, *Cryptobranchidae*, *Proteidae* y en algunas especies de las familias *Amphiumidae*, *Plethodontidae* y *Ambystomatidae* (Pough *et al.*, 2001)

En cuanto a diversidad del orden Urodela, dentro del estudio realizado por Parra-Olea y colaboradores publicado en 2014, México ocupa el segundo lugar en riqueza a nivel mundial con un total de 137

Reproducción y crecimiento de ajolote granulado en cautiverio

especies, después de Estados Unidos con un total de 189 especies. La familia Plethodontidae es la de mayor riqueza de especies, ya que este grupo representa el 30.85% de los anfibios de México.

FAMILIA AMBYSTOMATIDAE

La familia *Ambystomatidae* posee algunas especies con metamorfosis obligada, otras son paedomórficas obligadas y algunas presentan paedomorfosis facultativa. Esta última puede ocurrir en algunas poblaciones de una misma especie y depende de las condiciones ambientales (Duellman y Trueb, 1944; Travis y Semlitsch, 1998; Pough, *et al.*, 2001). Por lo general, en las especies metamórficas, la fase larvaria termina cuando se pierden los caracteres asociados a la vida acuática. Inmediatamente después, los organismos maduran, hacen la transición al hábitat terrestre y regresan al hábitat acuático para reproducirse (Travis y Semlitsch, 1998).

Esta familia cuenta con dos géneros:

1. *Dicamptodon* con cuatro especies: *Dicamptodon aterrimus*, *D. copei*, *D. ensatus* y *D. tenebrosus*; distribuidas en las costas del Pacífico de Canadá y Estados Unidos (Frost, 2014)
2. *Ambystoma*: cuenta con aproximadamente 33 especies descritas (Pough *et al.*, 2001); distribuidas en Norteamérica, desde el suroeste de Alaska y sur de Canadá, hasta el altiplano mexicano (Duellman y Trueb, 1944; Pough *et al.*, 2001). Los hábitos reproductivos de este género son enteramente acuáticos (Duellman y Trueb, 1944; Travis y Semlitsch, 1998)

México cuenta con 18 especies reportadas del género *Ambystoma* distribuidas en el noreste y centro del país; de las cuales, 16 son endémicas. Teniendo así un 88.8% de endemismos (Parra-Olea *et al.*, 2014). De las 16 especies endémicas, 15 se encuentran dentro de la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010), de estas, tres son clasificadas como amenazadas (A) y las doce restantes están

Reproducción y crecimiento de ajolote granulado en cautiverio

sujetas a protección especial (Pr). Entre estas últimas, se encuentra la especie *Ambystoma granulosum*.

DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE

Ambystoma granulosum fue descrita por Edward Harrison Taylor (1944):

“Presenta cabeza dirigida moderadamente hacia arriba, es más ancha detrás del ángulo de la mandíbula (23mm) mayor que la medida de la extremidad del hocico al doblar gular (20mm), pero menor que la distancia de la extremidad del hocico al surco gular, dorsal (30,2mm); longitud del ojo (3.5mm), menor que la distancia a la fosa nasal (4.8mm); distancia entre las fosas nasales, 5.9mm; distancia entre las órbitas, 8mm; ancho del párpado, 1.8mm; longitud del hocico, 7.2mm.

Una gran fosa palatina, transversalmente oval; coanas transversalmente ovales, la distancia entre ellas 7mm; dientes del prevomerianos-palatino como un borde algo arqueado, extendiéndose a través del paladar, con un diastema leve entre los prevomerianos y la serie del palatino; una indicación leve de una rotura mesial en el borde dental, pero aquí los dientes son continuos. Cerca de 48-48 dientes maxilares-premaxilares, y aproximadamente el mismo número de dientes de la mandíbula, estos últimos forman una serie bastante irregular; alrededor de 11-13 dientes del prevomerianos; 9 dientes palatinos.

Lengua bastante pequeña con laminilla longitudinal (una lengua más grande en especímenes más viejos). El pliegue cutáneo larval en la esquina de la boca aún es evidente como una pequeña aleta en el labio superior y un pequeño doblar en la parte trasera del labio inferior; ningún rastro de dientes espleniales.

La piel superior finamente corrugada o granular, más especialmente granular en la región caudal; un surco detrás del ojo que curvando

hacia abajo cerca de la esquina de la boca; doblez gular prominente; la piel de la barbilla forma dobleces longitudinales; un surco profundo que pasa de las esquinas del doblez gular, a medio camino de la línea dorsal media.

Una serie doble de hoyos agrandados comenzando en medio de las fosas nasales y hasta la parte posterior sobre la órbita, entonces abajo detrás de ella; otra serie de hoyos que comienzan detrás de las fosas nasales y que cubren gran parte del área debajo de ojo; otra serie única en el maxilar inferior. Los órganos dorso-laterales, laterales y latero-ventrales del neuromasto representados por algunos poros dispersados. Doce surcos costales, que se pueden seguir a través del abdomen; extremidades de longitud moderada; cuando están presionados los dedos del pie más largos alcanzan la muñeca; un tubérculo interno y externo en la palma y la planta. Dedos 1, 4, 2 3, en orden de longitud cada vez mayor; dedos del pie 1, 5, 2, 3, 4; la parte distal de los metacarpos y los metatarsos libres; y un borde indistinto del dedo externo del pie sobre el tarso; la aleta caudal gruesa, apenas distinguible del resto de la cola; la aleta sub-caudal más reducida y ligeramente gruesa; cola un poco más corta que la cabeza y el cuerpo; parte media de la cola más abajo que la base; paredes cloacales con dobleces y con una pequeña proyección de la parte anterior.

Color: amarillento-aceitunado arriba y en los lados, más oscuro en el dorso; vientre sucio, o amarillento-rosado con algunos puntos negros dispersas en el dorso que se extiende a los lados; cola con patrones semejantes.

Larvas: la aleta dorsal que se presenta surge en un punto en el nivel de las bases de la papada, y en los jóvenes, forma una curva continua al extremo de la cola, la parte dorsal es más elevada cerca

de la base de la cola; elevación de la parte sub-caudal de la aleta generalmente menos que la dorsal, aunque algunos especímenes la tienen igual a la dorsal; cuando las extremidades son oprimidas, las puntas de los dedos del pie alcanzan el codo; membranas interdigitales en el pie un poco más extensas que en el adulto, envolviendo los metatarsos a sus puntas.

Dientes maxilares-premaxilares en una fila muy irregular, aparentando como si hubiera más que una sola fila de dientes; dientes prevomerianos en dos fuertemente elevados, bordes ensanchados, cerca de 45 dientes en cada uno, acomodados en varias series, varios dientes al revés; los grupos de dientes, en contacto con la línea media, situados anteriores a una línea que conecta las coanas; la serie paladar-pterigoidea en dos arreglos longitudinales cada uno con cerca de 45 dientes, los dientes dispuestos en varias series transversales o diagonales. Cerca de 60 dientes espleniales en cada lado acomodados en varias series cortas. Dientes de la mandíbula muy irregulares. Lengua subdesarrollada.

Las larvas son de un ligero color rosado con poco o nada de negro en la parte posterior o en cualquier otra parte. Hay un poco de pigmento en la aleta de la cola, especialmente cerca de la punta y en la parte inferior, algunos especímenes tienen esta región casi negra lo cual puede apreciarse en la figura 1.”

Reproducción y crecimiento de ajolote granuloso en cautiverio

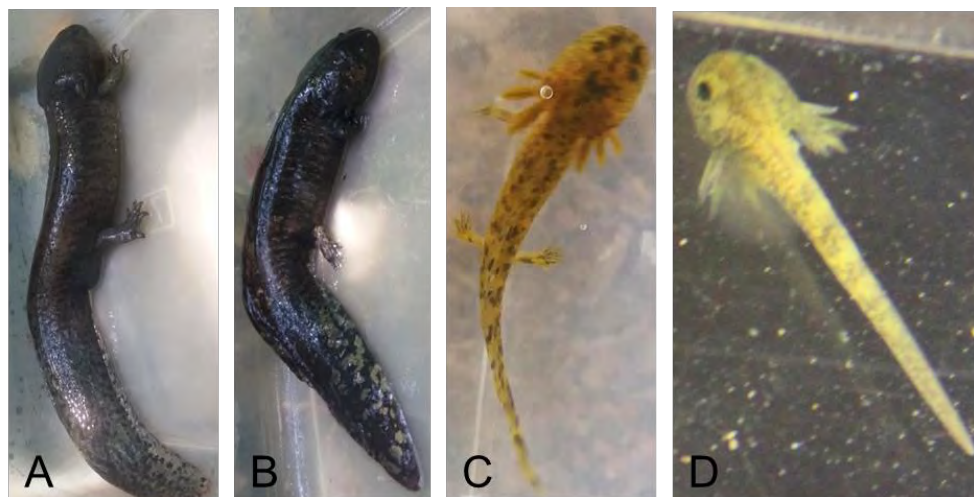


Figura 1: imágenes ilustrativas de la especie. A. Macho adulto B. Hembra adulta. C. Juvenil de 2 meses D. Larva

Ambystoma granulosum es una especie endémica de las Ciénegas de Lerma, ubicadas al noroeste de Toluca, Estado de México, que se encuentra en estado de protección especial bajo la NOM-059-SEMARNAT-2010 y en peligro crítico en la lista roja de la IUCN (2008), esto debido a que su grado de incidencia es menor de 100km², todos los individuos están en una sola subpoblación y existe un continuo declive en la extensión y calidad de su hábitat.

DISTRIBUCIÓN

Las Ciénegas de Lerma, decretada como área de protección de flora y fauna a nivel federal, se localizan en los alrededores de los municipios de Almoloya del Río, Lerma y Atarascuillo en el Estado de México, en la zona central del país.

La reserva cubre una extensión de 3023 ha que incluye tres cuerpos de agua separados entre sí: Chiconahuapan o Almoloya (596 ha), Chimaliapan o Lerma (2081 ha) y Chignahuapan o Atarascuillo (346 ha).

La región caracteriza por el clima templado subhúmedo, semifrío y frío con lluvias en verano y parte del otoño. Temperatura media anual 10-14 °C. La precipitación total anual es de 700-1,200 mm (Ramsar, 2003).

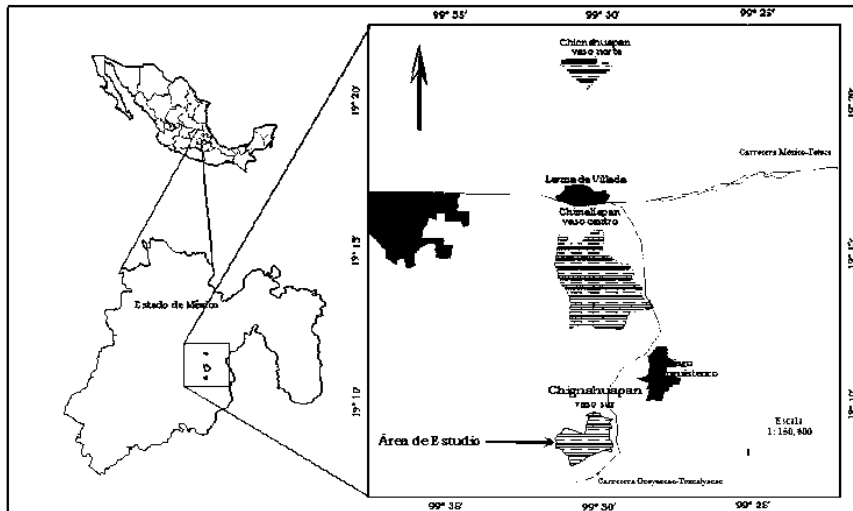


Figura 2: Mapa de las Ciénegas de Lerma tomado del artículo de Colón-Quezada, 2009

Reproducción y crecimiento de ajolote granulado en cautiverio



Figura 3: fotografía de las Ciénegas de Lerma en el municipio de Almoloya del Río.

ANTECEDENTES

La familia Ambystomatidae es una de las que más se ha estudiado, en específico a *Ambystoma mexicanum*, del cual se han realizado estudios sobre evolución, biología del desarrollo y ecología, dando como resultado el conocimiento de ciclos estacionales, anuales o bianuales de reproducción, fertilización interna y oviposición en agua (Salthe, 1969).

En cuanto a conservación, se han comenzado a tomar otro tipo de enfoques, como lo son los estudios genéticos, donde se buscó codificar a las especies de ajolotes mexicanos del género *Ambystoma*, incluido *Ambystoma granulosum*, encontrando que no hay una variación alta de genes en ellos y estableciendo las relaciones filogenéticas del género (Parra-Olea *et al.*, 2011; Shaffer, 1984).

También se han desarrollado estudios de su mantenimiento en cautiverio en estado larval con el fin de producir organismos sanos para investigación (Robles-Mendoza *et al.*, 2009) y reproducción *ex situ*.

Además, desarrollaron estudios sobre una enfermedad común en anfibios, la quitidriomicosis, incluyendo a *Ambystoma granulosum*, encontrando que éste es afectado por el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* el cual es altamente mortal para el espécimen (Frías *et al.* en 2008).

Los estudios sobre la reproducción de *Ambystoma granulosum* son limitados, sin embargo, ha sido reproducida exitosamente en condiciones de laboratorio con y sin inducción hormonal a base de Gonadotropina Coriónica Humana (hCG), determinando un ciclo

Reproducción y crecimiento de ajolote granulado en cautiverio

reproductivo anual sincrónico entre machos y hembras, con actividad máxima entre mayo y septiembre (Aguilar-Miguel *et al.*, 2009)

.

JUSTIFICACIÓN

La gran responsabilidad adquirida por México en el entorno internacional, no solamente por ser uno de los primeros lugares en biodiversidad sino porque refleja una imagen en el entorno de conservación de especies, conlleva la obligación de luchar con todos los medios disponibles para conservar sus especies endémicas, dentro de las cuales se encuentra *Ambystoma granulosum*.

La importancia que reviste la elaboración de este trabajo de investigación radica en que *Ambystoma granulosum* es una especie que ha sido poco estudiada, la cual se encuentra bajo la clasificación de Protección Especial en la NOM-059-SEMARNAT-2010 y más relevante aún debido a su endemismo, es por esto que con este trabajo se busca contribuir al conocimiento y generación de información sobre la biología de la especie, que contribuya a su conservación.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Establecer que la reproducción en condiciones de laboratorio de la especie *Ambystoma granulosum* es posible y se genera bajo ciertas condiciones.

OBJETIVOS PARTICULARES

- ❖ Determinar las condiciones de temperatura, fotoperiodo, alimentación, el volumen y calidad del agua adecuadas para lograr la reproducción de *Ambystoma granulosum*.
- ❖ Identificar el tamaño de puesta promedio de la especie.
- ❖ Reportar las medidas morfométricas de las larvas sometidas a estudio para poder evaluar el crecimiento.
- ❖ Determinar el tratamiento con menor mortalidad y mayor crecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

A continuación, se describirán de manera puntual tanto los materiales como los métodos empleados para la realización del presente trabajo de investigación reflejando su importancia para la obtención de los resultados.

Los organismos de *A. granulorum* (N=17: nueve hembras y ocho machos) fueron rescatados del humedal de Parque Tezozómoc, en el mes de abril del 2012; esto debido a que el lago se sometió a labores de desecación y mantenimiento. Los organismos se obtuvieron en estado paedomórfico y se transportaron al Laboratorio de herpetología "Vivario" de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, con dirección en Av. de los Barrios No. 1, Los Reyes Iztacala. Tlalnepantla, Edo. de México. C.P. 54090, donde han permanecido en cautiverio.

Dentro del laboratorio los individuos fueron colocados en diferentes peceras donde permanecieron en aclimatación durante cuatro meses (septiembre a diciembre), separando hembras de machos gracias al dimorfismo sexual expresado en el abultamiento de la cloaca (figura 4).

Reproducción y crecimiento de ajolote granulado en cautiverio

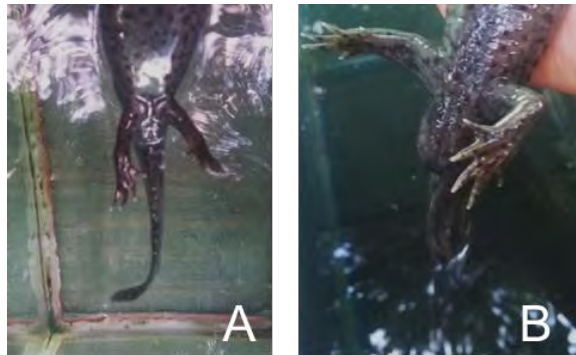


Figura 4: A: hembra. B: macho

Se montaron tres peceras de reproducción (figura 5):
Haciendo rotación mensual de machos entre ellas, para aumentar la variabilidad genética.

- ❖ La primera oval con aproximadamente 100 litros de agua y dos piedras grandes planas que fungieron como sustrato, en esta se colocaron cuatro parejas (densidad, 0.08ind/L).
- ❖ La segunda circular con 50 litros aproximadamente y con dos piedras planas como sustrato, se introdujeron tres parejas (densidad 0.12ind/L).
- ❖ La tercera circular con 50 litros aproximadamente y con dos piedras planas como sustrato, pero esta con dos hembras y un macho (densidad 0.06ind/L).

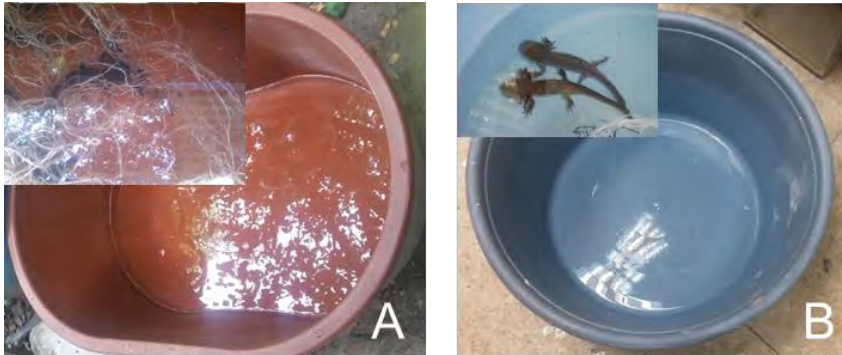


Figura 5: A: pecera oval B: pecera circular

Se alimentaron cada tercer día con dos grillos cada uno y se les hizo cambio parcial de agua una vez cada semana, con una limpieza total cada quince días, esto para minimizar el estrés que esta actividad les produce. Se vigilaron las condiciones de temperatura del agua manteniéndola entre 15 y 17°C, cuando ésta se elevaba se les adicionaba hielo a las peceras.

Se mantuvieron cubiertos con tapas plásticas opacas para favorecer la oscuridad del encierro, las piedras planas se agregaron con el fin de favorecer la adhesión del espermátóforo al sustrato y rafia plástica como sustrato para la oviposición (González, 2007). La temperatura ambiental no fue controlada, ya que los organismos permanecieron en exteriores, el clima predominante en el municipio es templado subhúmedo con lluvias en verano, temperatura media anual de 15.5° C y precipitación media de 733.9 mm (INAFED, 2010) y este ambiente es parecido al del lugar de procedencia de los organismos.

Las puestas, al ser detectadas, eran recolectadas, se contaban los huevos y se colocaban en peceras de diferentes capacidades (20, 30 o 50 litros) en función del tamaño de puesta, enriquecidas con

bombas de aire, para mantener una mejor oxigenación. Al momento en que se detectaba una larva en eclosión o libre en la pecera, se le recolectaba y se transfería a peceras de 20 o 30 litros. De estas peceras se seleccionaron 180 organismos de la primera puesta para experimentación una semana después de que toda la puesta eclosionó, buscando que fueran similares en tamaño.

Las larvas en experimentación se alimentaron diario con pulga acuática del suborden Cladocera (1ml por organismo) y al alcanzar una talla aproximada de 15 mm se les cambió la dieta por un alimento comercial: "tubifex" (anélidos acuáticos de la familia Tubificidae) dándoles una bolita de ≈ 0.5 cm diámetro al tratamiento de 6 organismo, ≈ 1 cm al de 12 y ≈ 1.5 cm al de 24, ajustándola según los restos dejados al día siguiente.

Se realizaron tres tratamientos para medir crecimiento: 24, 12 y 6 organismos en recipientes de 10x23cm con 1.5 litros de agua reposada, agua de grifo colocada en contenedores, por lo menos 24 horas antes de ser usada, con la finalidad de que los niveles de cloro en ella disminuyeran, para cada tratamiento (Figura 6). Esto con la finalidad de poder comparar en que grupo había un crecimiento mayor. Posteriormente, se obtuvo la mortalidad en cada uno, para poder compararla y encontrar en cual había una mayor sobrevivencia.



Figura 6: recipientes de 10x23cm con capacidad de 1.5 litros.

Se midieron 3 organismos elegidos al azar por repetición de cada tratamiento, la toma de datos se realizó con fotografías analizadas por medio del software de procesamiento de imágenes UTHSCSA Image Tool Versión 3.0., las cuales se tomaron los martes y jueves con los organismos en caja de Petri y una regla como referencia (Figura 7). Desde el nacimiento hasta la aparición de extremidades inferiores, esto ya que, al desarrollarlas, abandonan el estado de alevín. Las medidas tomadas fueron largo total (LT), largo cabeza (LC), ancho cabeza (AC) y largo branquia (LB).

Para la mortalidad se registraron los organismos vivos para cada tratamiento y sus repeticiones, los días de medición.

Los datos fueron analizados con el método de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos, ya que los resultados obtenidos no eran normales y la prueba T de Student de para contrastar los grupos (Vargas, 1995). Los análisis y las gráficas se realizaron con el programa SigmaPlot 13.0

Reproducción y crecimiento de ajolote granulado en cautiverio

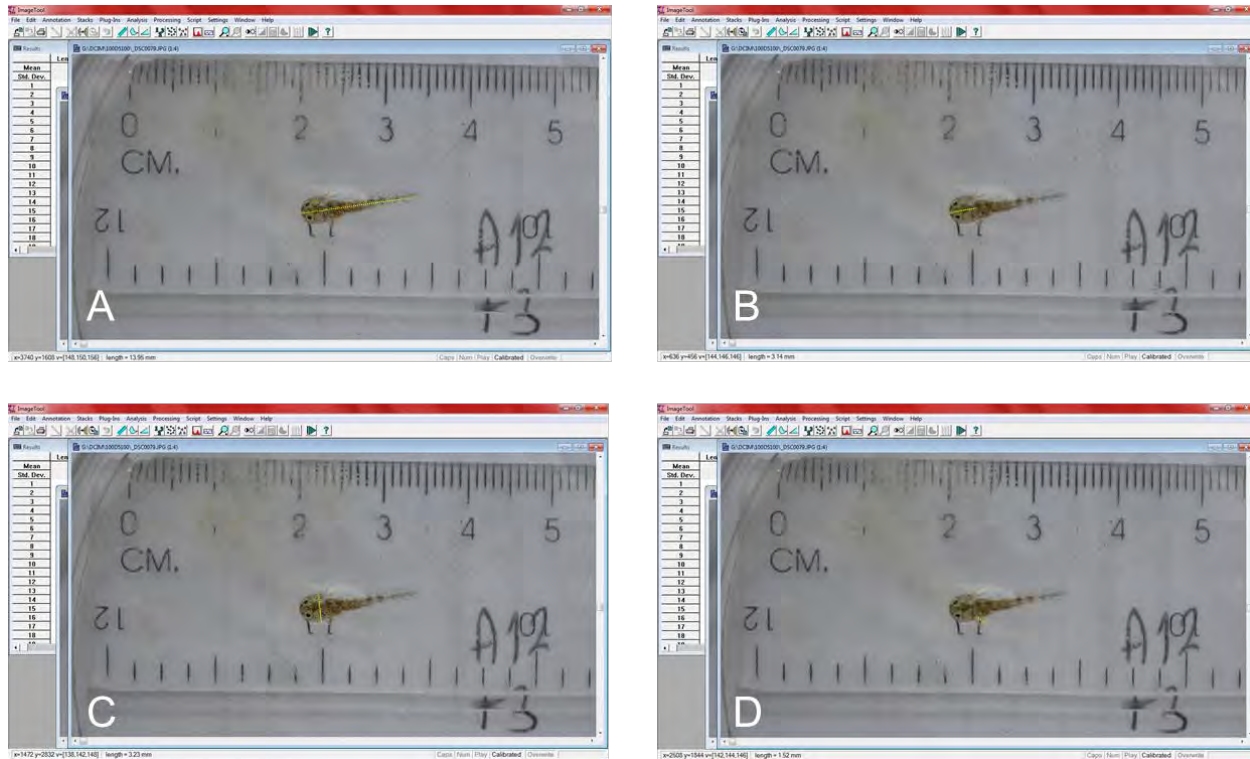


Figura 7: Medición de crías de *Ambystoma granulatum* con el software UTHSCSA Image Tool Versión 3.0, A: Largo total, B: Largo cabeza C: Ancho Cabeza y D: Largo branquia.

RESULTADOS

Condiciones

Se encontró que mantener las condiciones como se marca en la metodología fue propicio para favorecer la reproducción de los organismos:

- Temperatura: entre 15 y 17°C
- Fotoperiodo: 18 horas de oscuridad y 6 hora de luz (durante la alimentación y manejo).
- Alimentación: cada tercer día con dos grillos cada adulto
- Calidad del agua: cambio parcial de agua una vez cada semana, con una limpieza total cada quince días.
- Volumen: Se obtuvieron dos puestas en la pecera de 100 litros con cuatro parejas y tres puestas en la pecera de 50 litros con 3 parejas.

Reproducción

Se obtuvieron cinco puestas, de las cuales se estimó un promedio de puesta de 1150 ± 929 huevos.

Tabla 1. Datos de las puestas.

Número de puesta	Fecha de puesta	Fecha de eclosión	Número de huevos	Pecera
1	2-Ene-2013	19-Ene-2013	2242	1
2	11-Feb-2013	27-Feb-2013	2071	1
3	15-Abr-2013	29-Abr-2013	645	2
4	13-May-2013	27-May-2013	480	2
5	20-May-2013	5-Jun-2013	311	2

En las puestas se registraron huevos múltiples (figura 8).

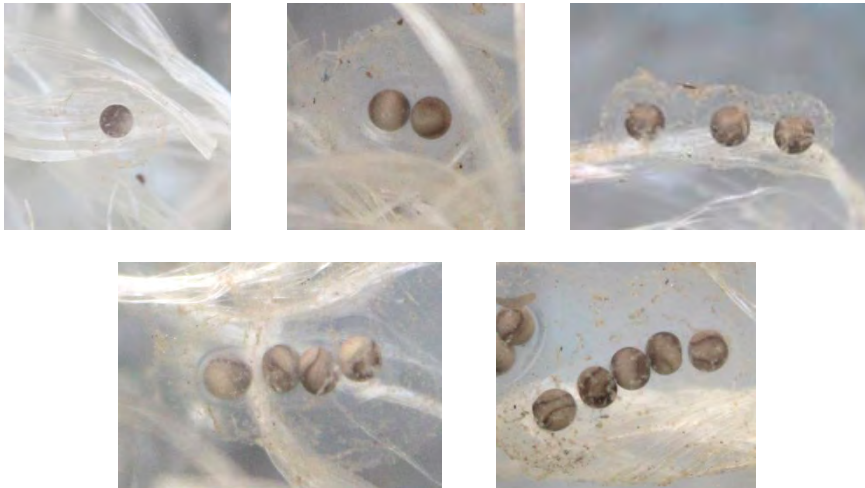


Figura 8: huevo sencillo y huevos múltiples de las puestas.

Crecimiento

Se registraron las medidas: largo total, largo cabeza, ancho cabeza y largo branquia, durante 36 días de experimentación, comenzando una semana después de la eclosión de toda la puesta, para observar el crecimiento de los organismos (se observa en la tabla 2 y figura 9).

Tabla 2: Crecimiento promedio al día por tratamiento y medida morfométrica, con una P=1

Tratamiento Medidas	24 organismos (n=94)	12 organismos (n=106)	6 organismos (n=77)
Largo Total (mm)	0.242±0.885	0.297±1.010	0.359±1.048
Largo Cabeza (mm)	0.047±0.340	0.071±0.386	0.070 ±0.294
Largo Branquia (mm)	0.045±0.247	0.056±0.248	0.049±0.328
Ancho Cabeza (mm)	0.048±0.203	0.063±0.231	0.071±0.221

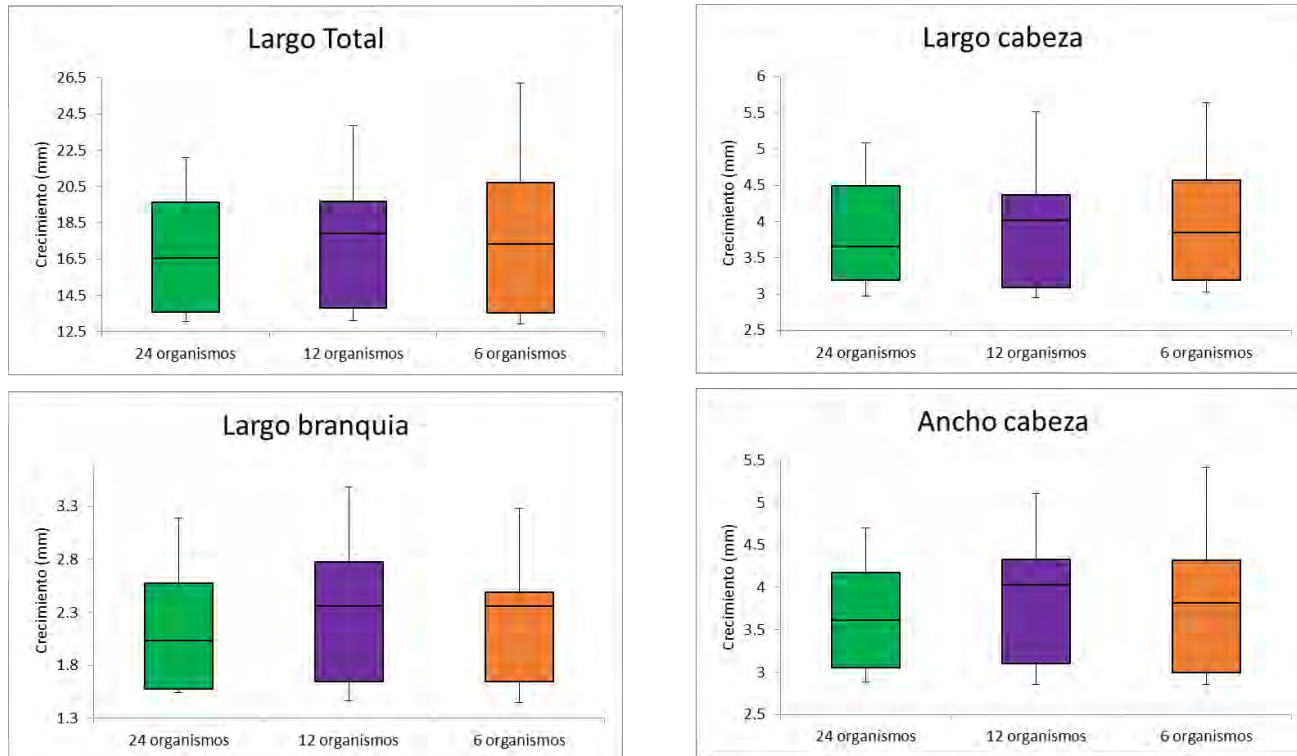


Figura 9: graficas de cajas del tamaño de los organismos por medida morfométrica, donde se observan máximos y mínimos.

Reproducción y crecimiento de ajolote granulado en cautiverio

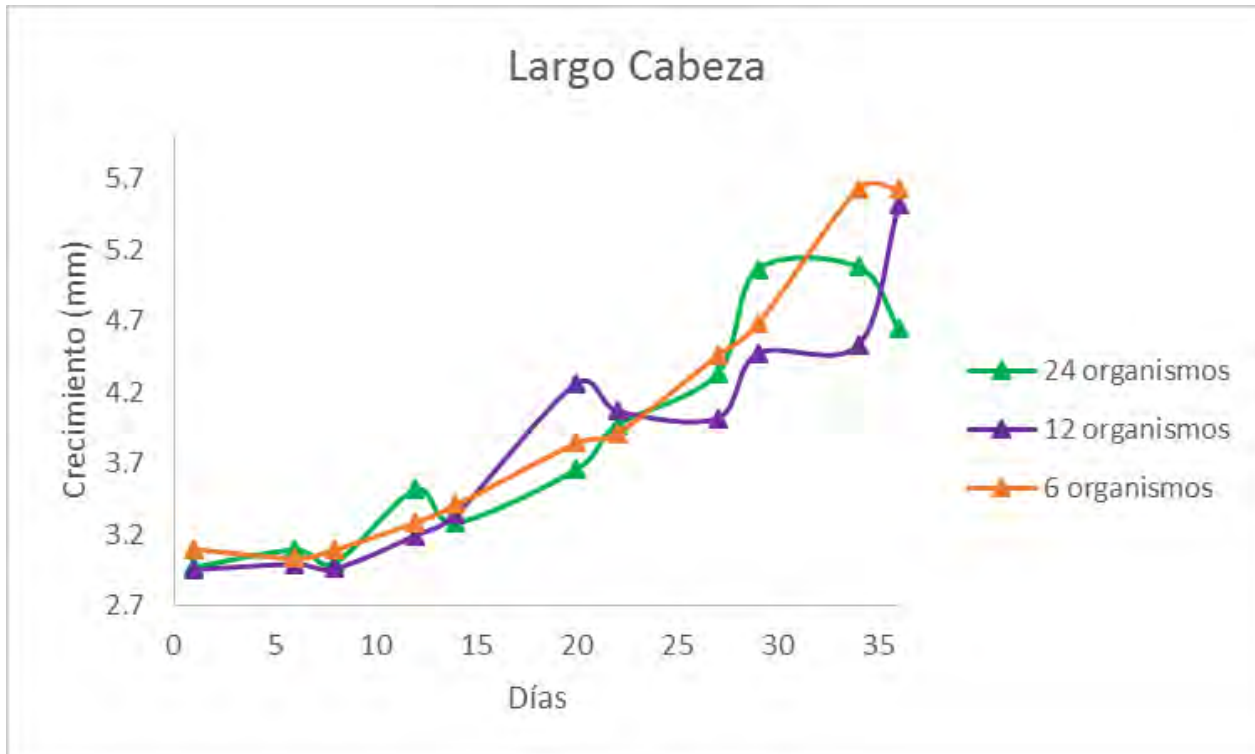


Figura 10: crecimiento del largo de la cabeza de los organismos en los diferentes tratamientos, con una $P=0.858$

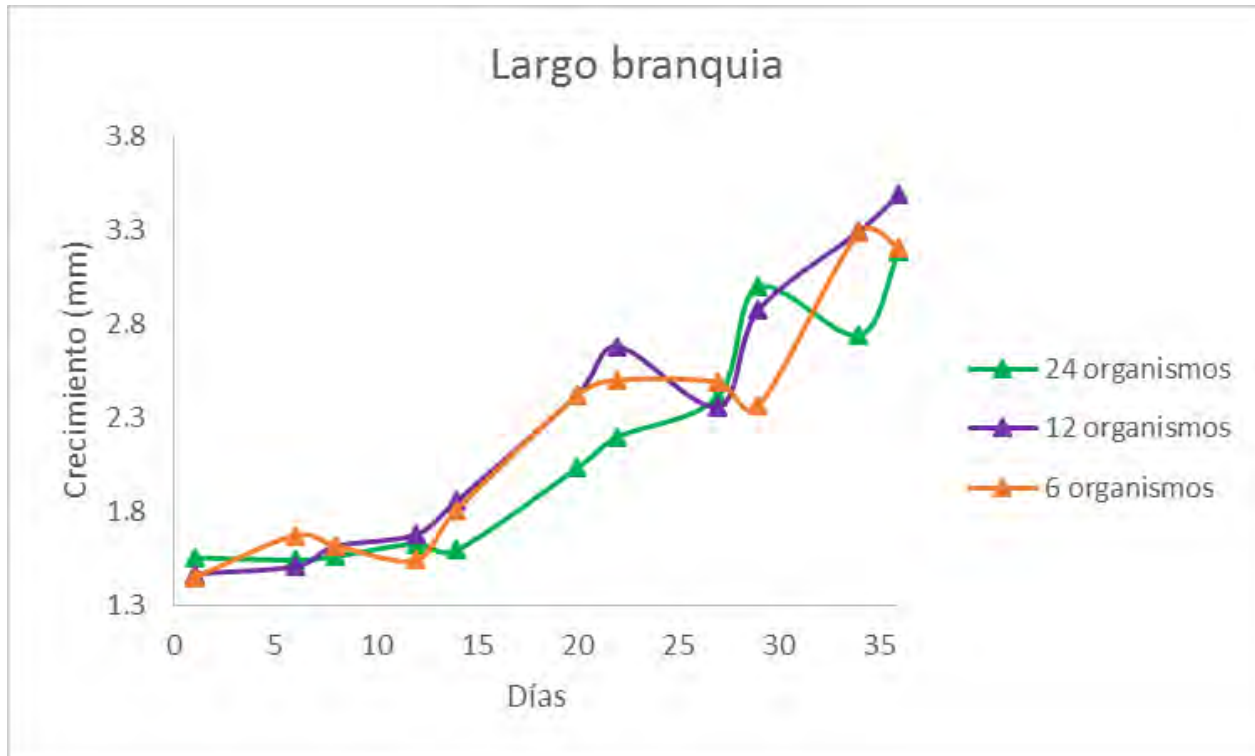


Figura 11: muestra el crecimiento del largo de las branquias de los organismos en los diferentes tratamientos, con una $P=0.846$



Figura 12: muestra el crecimiento del largo total de los organismos en los diferentes tratamientos, con una $P=0.922$



Figura 13: muestra el crecimiento del ancho de la cabeza de los organismos en los diferentes tratamientos, con una $P=0.922$

Mortalidad

Un dato extra que se pudo observar durante este trabajo, fue la presencia de canibalismo, por lo que, además de registrar los organismos que morían por día y extraer los cadáveres encontrados, se contabilizaron los cadáveres faltantes (figura 14).



Figura 14: se muestran los organismos fallecidos, los cadáveres recuperados y los cadáveres faltantes totales, durante los 36 días de experimentación como evidencia del canibalismo.

Posteriormente se analizó la mortalidad por tratamiento, esperando que la mortalidad aumenta a mayor población (figura 15).

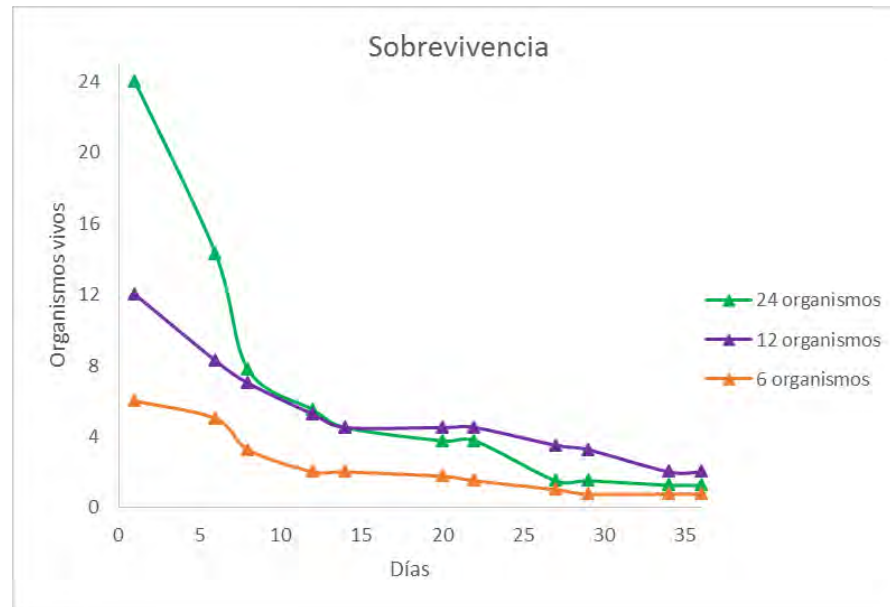


Figura 15: se muestran los organismos vivos en función de los días transcurridos, por cada tratamiento con una $P=0.028$ y diferencias entre grupos analizadas con T de Student $P<0.050$.

DISCUSIÓN

Se consiguió establecer las condiciones necesarias para lograr la reproducción de los organismos *ex situ*, obteniendo cinco puestas exitosas en cinco meses, lo que concuerda con lo dicho por Aguilar-Miguel *et al.* en 2009. Se consiguió regular los periodos de obscuridad utilizando tapas opacas para evitar la radiación directa y al realizar la alimentación con pinzas para sostener a los grillos, se evitó la competencia y así las agresiones entre ellos, lo cual favoreció la reproducción. También, fue posible mantener la temperatura en el rango establecido de 15 a 17°C y se logró controlar, según la metodología, la calidad del agua. Además, se observó que tres de las cinco puestas fueron en la pecera de 50 litros con tres parejas, mientras que en la pecera con 3 organismos y 50 litros de agua no hubo puestas, esto podría deberse a la falta de competencia y estimulación, ya que en esta última había dos hembras y un macho, lo cual según los manuales de reproducción para *Ambystoma mexicanum* deben manejarse de 2 a 3 machos por hembra, para lograr una mayor estimulación de estos últimos (Mena *et al.*, 2014).

El promedio de puesta fue de 1150 ± 929 huevos lo que supera lo dicho por los autores anteriores que obtuvieron puestas con un promedio de 664 ± 325 huevos sin inducción hormonal y el periodo de puesta difiere, ya que ellos obtuvieron puestas de mayo a septiembre e indican que *Ambystoma granulosum* tiene ciclo anual. Las puestas registradas son mayores que las de otras especies del género, como *A. mexicanum* que tiene puestas de 100 a 600 huevos (Servín, 2011), *A. lermaense* de 841 huevos (Aguilar *et al.*, 2002) o *A. altamirani* que oviposita de 20 a 200 huevos (García, 2013). Los tiempos de eclosión también son diferentes, ya que *A. granulosum* maneja un promedio de

15 días, mientras que *A. mexicanum* tiene un promedio de 12 días (Servín, 2011) y *A. altamirani* de 3 a 4 meses (García, 2013).

Los resultados encontrados en este estudio indican que las puestas comenzaron en enero y continuaron hasta mayo. Esto amplía el periodo reproductivo y muestra evidencia de que la reproducción no es cíclica y si las condiciones se prestan, podrán reproducirse exitosamente durante todo el año, al igual que *A. mexicanum* en cautiverio (Servín, 2011) a diferencia de *A. lermaense* que se reproduce de mayo a septiembre (Aguilar-Miguel *et al.*, 2009) o *A. dumerilii* que se reproduce durante el periodo de febrero a mayo (Brandon, 1970).

Las diferencias en la metodología, que podrían haber generado la variación, son:

- La ambientación de los acuarios, puesto que Aguilar-Miguel *et al.* trabajaron en acuarios ambientados con una parte de tierra, con una capa de musgo, así como refugios artificiales a base de tejas de plástico y una parte con agua, con un filtro de plataforma en el fondo y encima una capa de grava, así como plantas acuáticas (*Elodea* sp.) (estas últimas en el caso de este trabajo, no se adicionaron para evitar riesgos de infecciones en los organismos). Sin embargo, como *A. granulorum* se reproduce paedomórficamente, podría no ser relevante (Aguilar-Miguel *et al.* 2009).
- Fotoperiodo, ya que se manejaron rangos de luz total, luz parcial y oscuridad, observando que ésta última favorecía el cortejo.
- Temperatura, aunque se mantuvo dentro del rango que Aguilar-Miguel *et al.* manejaron de 14° a 18°C, en este estudio se mantuvo entre 15° y 17°C.

Un dato extra que se pudo registrar fue la presencia de huevos múltiples en las puestas, de lo cual no se encontraron artículos o informes al respecto. Solo una Tesis que menciona la presencia de poliembriones en *Ambystoma altamirani* (García I, 2013). No se sabe si esta condición es intrínseca a que la cavidad abdominal de las hembras es estrecha y las puestas muy numerosas, o tiene alguna otra explicación. Se debe generar un trabajo más amplio para estos resultados, ya que se observó que las larvas de huevos múltiples se desarrollaban más rápido, eclosionaban antes y eran de menor tamaño.

En cuanto a los resultados de crecimiento, se observó que los organismos alcanzaron su etapa juvenil a los 36 días de experimentación, tiempo en que comenzaron a crecer sus extremidades superiores. Asimismo, se logró medir y registrar el crecimiento durante este periodo de tiempo, sin diferencias significativas en el crecimiento promedio por día de los organismos entre tratamientos, sin embargo, el tratamiento de 6 organismos es ligeramente mayor en las tallas máximas de tres de las medidas morfométricas (Largo total, Largo cabeza, Ancho cabeza), excepto en Largo branquia donde la talla máxima es ligeramente mayor en el tratamiento de 12.

Los resultados no son concluyentes, puesto que para el día 8 de experimentación, las poblaciones del tratamiento de 24 y 12 organismos se volvieron similares. Por lo cual se necesitaría realizar la comparación entre repeticiones de tratamientos para poder analizar a fondo si existe una relación entre el crecimiento y la densidad de población. Esperando que los individuos bajo experimentación crezcan más rápidamente en densidades bajas de población y más lentamente en altas densidades, según los resultados encontrados

para *Ambystoma talpoideum* por Semlitsch en 1987; y para *Ambystoma texanum* por Petranka y Sih en 1986.

El fenómeno de canibalismo se observó en los tres tratamientos, sin diferencias significativas. Siendo el tratamiento de 24 organismos, en el que faltaron 2 cadáveres. Asimismo, en las peceras de mantenimiento de las puestas, fuera de los organismos en tratamiento, se observó un organismo que alcanzó una talla considerablemente mayor y la etapa juvenil en menor tiempo a los demás. Se encontró que dicho organismo presentaba conductas caníbales (se observó en su tracto digestivo el cuerpo de una larva de menor tamaño), las cuales se consideran son inherentes al cautiverio, pero que tienen gran influencia en el desarrollo del animal. Sin embargo, al no ser uno de los objetivos del presente trabajo, no se obtuvo evidencia para documentarlo. Se menciona, ya que es importante tomarlo en cuenta para la reproducción en cautiverio de la especie (Mena *et al*, 2014).

La conducta caníbal concuerda con los trabajos hechos para *A. mexicanum*, ya que en los manuales de manejo para esta especie se menciona que se presenta canibalismo en etapas tempranas de la vida (Servín, 2011). Petranka y Sih en 1986, observan la presencia de este evento en *A. laterale* y explican que al existir canibalismo, dichos organismos crecen más rápido. Lo cual Quinzio *et al.* en 2015 exponen en sus trabajos con anuros, grupo cercano a los urodelos, los cuales indican que debido al incremento de proteína en la dieta por comportamiento caníbal la tasa de crecimiento aumenta debido a la estimulación de la función tiroidea.

Los resultados de mortalidad concuerdan con lo dicho por Van Buskirk y Smith en 1991, quienes establecen que la mortalidad aumenta a mayor población, ya que se encontraron diferencias

significativas en el análisis de T de Student entre el tratamiento de 12 organismos con el de 6 y el tratamiento de 24 organismos con el de 6, sin diferencias entre el de 24 y 12 por lo antes mencionado de la similitud poblacional entre dichos tratamientos a partir del día 8.

CONCLUSIÓN

La reproducción *ex situ* es exitosa para *A. granulorum* y éste puede reproducirse a lo largo del año siempre que existan las condiciones adecuadas para esto.

El tamaño de puesta promedio fue de 1150 ± 929 huevos existiendo huevos múltiples en ellas.

El tiempo promedio de eclosión fue de 15 días.

Las larvas alcanzan su etapa juvenil aproximadamente a los 43 días de nacidas.

El crecimiento fue similar en los diferentes tratamientos, con medidas iniciales (i en mm, día 1 de experimentación) y finales (f en mm, día 36 de experimentación) por medida de:

- 6 organismos:
 - ❖ LT: 13.24i y 26.17f
 - ❖ LC: 3.10i y 5.63f
 - ❖ LB: 1.45i y 3.28f
 - ❖ AC: 2.85i y 5.42f
- 12 organismos:
 - ❖ LT: 13.15i y 23.85f
 - ❖ LC: 2.95i y 5.52f
 - ❖ LB: 1.47i y 3.49f
 - ❖ AC: 2.85i y 5.10f
- 24 organismos:
 - ❖ LT: 13.35i y 22.07f
 - ❖ LC: 2.97i y 5.08f
 - ❖ LB: 1.55i y 3.19f
 - ❖ AC: 2.96i y 4.70f

La mortalidad aumenta en altas densidades poblacionales.

El canibalismo se presenta en la especie e influye positivamente en su crecimiento, sin embargo, no es benéfico para el cautiverio.

Reproducción y crecimiento de ajolote granulado en cautiverio

La reproducción *ex situ* es una buena estrategia para esta especie, puesto que se logra reproducir exitosamente en condiciones de laboratorio.

RECOMENDACIONES

Se recomienda que para su mantenimiento en cautiverio se utilicen densidades medias de población (4 a 8 organismos por litro de agua), lo cual favorecería la sobrevivencia, así como mantener el alimento en proporción a la cantidad de organismos, para no generar turbidez en el agua y disminuir tanto la competencia como el canibalismo.

Mantener una dieta alta en proteínas para un desarrollo mayor de los organismos.

Se deben enriquecer los hábitats de las larvas y juveniles con piedras y escondites, para disminuir la presencia de canibalismo, así como vigilar constantemente el tamaño de los organismos y separar a los de mayor talla de los de menor, puesto que se observó que los primeros suelen consumir a los segundos.

Se debe cuidar la variabilidad genética en los organismos de la colonia si se busca mantenerla, favoreciéndola inicialmente con el intercambio de machos entre peceras, mezcla de crías de distintos padres y posteriormente, con el intercambio de organismos adultos con otras colonias ya establecidas, tal como la del Laboratorio de Ecología y Conservación del Centro de Investigaciones y Recursos Bióticos (CIRB) de la Universidad Autónoma del Estado de México.

De continuar con los trabajos siguiendo estas recomendaciones, se podría implementar una colonia exitosa que posteriormente sirviera para comenzar a repoblar su hábitat natural en las Ciénegas de Lerma o para generar una población numerosa para trabajar la conservación *in situ*.

REFERENCIAS

Aguilar, X., G. Casas A. y E. Pineda. 2002. Natural history notes: *Ambystoma lermaense* (Lake Lerma Salamander). Reproduction and development. Herpetological Reviews 33:197.

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

Brandon, R.A. 1970. Size range maturity, and reproduction of *Ambystoma (bathysiredon) dumerillii* (Dugès), a paedogenetic Mexican salamander endemic to Lake Pátzcuaro, Michoacán. Copeia: 385-388.

Collins J. y Storfer A. 2003. Global amphibian declines: sorting the hypotheses. Diversity and Distributions. A journal of Conservation Biogeography. 9:89-98.

Colón-Quezada D. 2009. Composición de la dieta de otoño del pato mexicano (*Anas diazi*) en el vaso sur de las Ciénegas del Lerma, Estado de México. Revista Mexicana de Biodiversidad 80:193-200.

Daszak P., Cunningham A. y Hyatt A. 2003. Infectious disease and amphibian population declines. Diversity and Distributions. A journal of Conservation Biogeography. 9:141-150.

Doty, T.L. 1978. A study of larval amphibian population dynamics in a Rhode Island vernal pond. Ph. Dissertation. University of Rhode Island, Kingston, RI. 132 pp.

Duellman, W. y Trueb L. 1994. Biology of amphibians. Mcgraw Hill, New York. 670 p.

Frías-Álvarez P., Vredenburg V., Familiar-López M., Longcore J., González-Bernal E., Santos -Barrera G., Zambrano L. y Parra-Olea

G. 2008. Chytridiomycosis Survey in Wild and Captive Mexican Amphibians. *EcoHealth* 5:18–26.

Frost-Darrel R. 2014. Amphibian Species of the World. Disponible en: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York, USA. Consultado: Julio 2015

García. I. 2013. Algunos aspectos ecológicos y reproductivos del ajolote (*Ambystoma altamirani*, Dugés, 1895) del Municipio de Jilotzingo Estado de México. Tesis para obtener el título de Biólogo. Facultad de Estudios Superiores Iztacala de la Universidad Nacional Autónoma de México. 50pp

Gonzalez R. 2007 Inducción de la Reproducción en el ajolote *Ambystoma mexicanum*. Quinta reunión del Giax, Disponible en: http://ajolote.ibiologia.unam.mx/documentos/presentaciones_cautiverio/11.pdf. Consultado: Enero-2012

IUCN (International Union for Conservation of Nature). 2009. La crisis de extinción de especies continúa a ritmo acelerado. Disponible en: <http://www.iucn.org/es/?4143/La-crisis-de-extincion-de-especies-continua-a-ritmo-acelerado--UICN>. Consultado: Julio-2015

INAFED (Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal). 2010. Enciclopedia de los municipios y delegaciones de México. Disponible en: <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM15mexico/municipios/15104a.html>. Consultado: Julio-2014

Klomp H. 1962. The influence of climate and weather on the mean density level, the fluctuations, and the regulation of animal numbers. *Archives Néerlandaises de Zoologie* 15:68-109.

Matton A. 2000. Amphibia Fanding Disponible en: <http://www.worldwatch.org/node/489>. Consultado: Julio-2014

Mena H. y Servín E. 2014. Manual básico para el cuidado en cautiverio del axolote de Xochimilco (*Ambystoma mexicanum*). Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología. Disponible en: http://www.ibiologia.unam.mx/barra/publicaciones/manual_axolotes.pdf. Consultado: Julio-2014

Parra-Olea G., Flores-Villela O. y Mendoza-Almeralla. C. 2014. Biodiversidad de anfibios en México. Revista Mexicana de Biodiversidad. México. 85: S460-S466.

Parra-Olea G., Zamudio K., Recuero E., Aguilar-Miguel X., Huacuz D. y Zambrano L. 2011. Conservation genetics of threatened Mexican axolotls (*Ambystoma*). Animal conservation. 15:61-72 Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-1795.2011.00488.x/full> Consultado: Agosto-2012

Petranka J. 1989. Density-dependent growth and survival of larval *Ambystoma*: evidence from whole-pond manipulations. Ecology. 70:1752-1767.

Petranka J. y Sih A. 1986. Environmental stability, competition, and density-dependent growth and survivorship of a stream-dwelling salamander. Ecology. 67:729-736.

Pough F., Andrews R. Cadle J., Crump M., Savitzky A. y Wells K. 2001. Herpetology. 2nd Ed. Prentice Hall, New Jersey. 612 p.

Quinzio S., Goldberg J., Cruz J., Pereyra M. y Fabrezi M. 2015. La morfología de los Anuros: pasado, presente y futuro de nuestras investigaciones. Cuadernos de herpetología. 29:1: 51-67

Ramsar. 2003. Ficha informativa de los Humedales de Ramsar. Disponible en: http://ramsar.conanp.gob.mx/docs/sitios/FIR_RAMSAR/Estado_de_Mexico/Cienegas_de_Lerma/Ci%C3%A9negas%20de%20Lerma.pdf Consultado: Agosto-2014

Robles-Mendoza C. García-Basilio E. y Vanegas-Pérez. R. 2009. Soluciones de mantenimiento de juveniles del ajolote *Ambystoma mexicanum* (Amphibia: Caudata). *Hidrobiológica*. 19(3): 205-210

SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2010. 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. Diario Oficial de la Federación. 30 de diciembre de 2010.

Shaffer H., Flores-Villela O., Parra-Olea G. y Wake D. 2008. IUCN (International Union for Conservation of Nature) The IUCN Red List of Threatened Species. *Ambystoma granulosum*. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T59058A11877234>. Consultado: Enero-2012

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

Scott D. 1990. Effects of Larval Density in *Ambystoma opacum*: An Experiment Large-Scale Field Enclosures. *Ecology*. 71:296-306.

Semlitsch R. 1987. Paedomorphosis in *Ambystoma talpoideum*: effects of density, food, and pond drying. *Ecology*. 68(4):994-1002

Servín E. 2011. Manual de mantenimiento en cautiverio y medicina veterinaria aplicada al ajolote de Xochimilco (*Ambystoma mexicanum*) en el Zoológico de Chapultepec. Tesis para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. 205pp

Shaffer H. 1984. Evolution in a paedomorphic lineage I. And electrophoretic analysis of the Mexican *Ambystomatid* salamanders. *Evolution*. 38:1194-1206

Smith C. 1990. Effects of Variation Body Size on Intraspecific Competition among Larval Salamanders Ecology.71:1777-1788.

Squeo F. A., Arancio G. y J.R. Gutiérrez. 2001. Libro Rojo de la Flora Nativa y de los Sitios Prioritarios para su Conservación: Región de Coquimbo. Ed. Universidad de La Serena, La Serena, Chile. 18:273-280.

Disponible en <http://www.biouls.cl/Irojo/Manuscrito/Capitulo%2018%20Conservacion.PDF> Consultado: Julio-2014

Stenhouse S., Hairston N. y Cobey A. 1983. Predation and competition in *Ambystoma* larvae: field and laboratory experiments. Journal of Herpetology. 17:210- 220.

Stepahn, E. y Ensástigue, J.2001. El ajolote, otro regalo de México al mundo. CONABIO. Biodiversitas. 35:7-11

Taylor E. 1944. A New *Ambystoma* Salamander from the Plateau Region of Mexico. University of Kansas Science Bulletin. 30:57-61.

Travis J. y Semlitsch R.1998. Intraspecific heterochony and lie story evolution: Decoupling somatic and sexual development in a facultative paedomorphic salamander. Evolution. 95:5643-5648

Van-Buskirk J y Smith D. 1991. Density-Dependent Population Regulation in a Salamander. Ecology. 72(5):1747-1756

Vargas, A. 1995. Estadística descriptiva e inferencial. Servicio de publicaciones de la Universidad de Castilla-La Mancha. 526pp.

Voss R. y Shaffer H. 1997. Adaptive evolution via major gene effect: Paedomorphosis in the Mexican axolotl. Proceedings of the National Academy of Sciences EUA 94:14185-14189

Wake D. y Vredenburg V. 2008. Are we in midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. Proceedings of the National Academy of Sciences. 5:11466-11473.

Wilbur H. 1972. Competition, predation, and the structure of the *Ambystoma-Rana sylvatica* community. *Ecology*. 53:3-21.

Wilbur H. 1987. Regulation of structure in complex systems: experimental temporary pond communities. *Ecology* 68(5):1437-1452.

Wilbur H. 1988. Size-structured populations. Interactions between growing predators and growing prey. B. Ebenman and L. Persson, editors. Springer-Verlag, Berlin, Alemania. 157-172pp