

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA ECOLOGÍA

Requerimientos térmicos e hídricos de *Pseudoeurycea leprosa* (Caudata: Plethodontidae) en el Parque Nacional la Malinche, Tlaxcala.

# **TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

# MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

#### PRESENTA:

#### **LUIS ALBERTO RODRIGUEZ MIRANDA**

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. FAUSTO ROBERTO MÉNDEZ DE LA CRUZ INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. GABRIELA PARRA OLEA INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

DR. EDUARDO OCTAVIO PINEDA ARREDONDO

INSTITUTO DE ECOLOGÍA, A.C.





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 POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA ECOLOGÍA

Requerimientos térmicos e hídricos de *Pseudoeurycea leprosa* (Caudata: Plethodontidae) en el Parque Nacional la Malinche, Tlaxcala.

# **TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

# MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

#### PRESENTA:

#### **LUIS ALBERTO RODRIGUEZ MIRANDA**

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. FAUSTO ROBERTO MÉNDEZ DE LA CRUZ INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. GABRIELA PARRA OLEA INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

DR. EDUARDO OCTAVIO PINEDA ARREDONDO

**INSTITUTO DE ECOLOGÍA, A.C.** 



Lic. Ivonne Ramírez Wence Directora General de Administración Escolar, UNAM P r e s e n t e

Me permito informar a usted que en la reunión del Subcomité por Campo de Conocimiento de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 29 de febrero de 2016, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS del alumno RODRÍGUEZ MIRANDA LUIS ALBERTO con número de cuenta 305055499 con la tesis titulada "Requerimientos térmicos e hídricos de Pseudoeurycea leprosa (Caudata: Plethodontidae) en el Parque Nacional la Malinche, Tlaxcala", realizada bajo la dirección del DR. FAUSTO ROBERTO MÉNDEZ DE LA CRUZ:

Presidente:

DR HIBRAÍM ADAN PÉREZ MENDOZA

Vocal:

DR. MANUEL FERIA ORTÍZ

Secretario:

DR. EDUARDO OCTAVIO PINEDA ARREDONDO

Suplente:

DR. ANIBAL HELIOS DÍAZ DE LA VEGA PÉREZ

Suplente:

DR. GUILLERMO ALFONSO WOOLRICH PIÑA

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cd. Universitaria, Cd. Mx, a 5 de octubre de 2016.

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA COORDINADORA DEL PROGRAMA CIENCIAS

COORDINACIÓN

c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

#### **AGRADECIMIENTOS**

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca 545705/294559 (CVU/Becario).

Al PAPIIT/DGAPA por el financiamiento otorgado con el proyecto IN210116.

A los miembros del comité tutor: Dr. Fausto Roberto Méndez de la Cruz, Dra. Gabriela Parra Olea y Dr. Eduardo Octavio Pineda Arredondo, por sus valiosas sugerencias y aportaciones que enriquecieron este proyecto.

### AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

A mi tutor y amigo Dr. Fausto R. Méndez de la Cruz, por su guía y enseñanzas.

A los miembros de jurado por las observaciones y contribuciones para este escrito: Dr. Eduardo Octavio Pineda Arredondo, Dr. Manuel Feria Ortíz, Dr. Guillermo Alfonso Woolrich Piña, Dr. Aníbal Helios Díaz de la Vega Pérez y Dr. Hibraím Adán Pérez Mendoza.

A mis amigos del laboratorio de Herpetología II, del Instituto de Biología: Oscar, Diego, Franklin, Raúl, Francisco, Marcos, Natalia, Rafa, Aníbal, Cynthia y Saúl. Por su ayuda en campo y sugerencias para mejorar esta tesis.

A mis amigos de la licenciatura, en especial a Oscar, Roberto, Ismael, Franklin, Sara y Ángel por compartir momentos inolvidables.

Al Dr. Amando Bautista, Dra. Margarita Martínez y Dr. Jorge Vázquez de la UATx-UNAM, por todas las facilidades a lo largo de este proyecto.

Al Sr. Romualdo y la Sra. Flor por todo su apoyo y atenciones que han tenido conmigo.

#### **DEDICATORIA**

A mis padres y hermano, por su apoyo incondicional, por sus enseñanzas y por ser el mejor ejemplo en mi vida. ¡Gracias por todo!

A mis abuelitos y tía Silvia: Por todo su cariño y apoyo.

A Mony, por crecer juntos como personas, por acompañarme a lo largo de este camino y sobre todo, por ser la mejor compañera de vida.

# ÍNDICE

Resumen	1
Abstract	2
Introducción	3
Antecedentes	7
Requerimientos térmicos	7
Requerimientos hídricos	9
Modelos para estudios de ecofisiología de anfibios	10
Hipótesis	12
Objetivos	12
Descripción de la especie	13
Área de estudio	15
Materiales y métodos	18
Resultados	24
Calibración	24
Termorregulación	25
Pérdida hídrica	36
Discusión	41
Requerimientos térmicos	41
Requerimientos hídricos	46
Conclusiones	49
Literatura citada	50

# **ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS**

Figura 1. Ejemplar de <i>Pseudoeurycea leprosa</i> 13
Figura 2. Ubicación del Parque Nacional la Malinche (Google Earth)15
Figura 3. Correlación entre la temperatura del organismo vivo y el modelo biofísico
Figura 4. Correlación entre pérdida hídrica de los organismos vivos y el modelo biofísico
Figura 5. Regresión lineal entre temperatura corporal de <i>P. leprosa</i> y LHC26
Figura 6. Regresión lineal entre temperatura corporal de <i>P. leprosa</i> y la masa26
Figura 7. Temperaturas corporales de <i>P. leprosa</i> por temporada27
Figura 8. Temperaturas seleccionadas de <i>P. leprosa</i> por temporada28
Figura 9. Temperaturas corporales de <i>P. leprosa</i> por sexos
Figura 10. Temperaturas corporales de las hembras grávidas y hembras no grávidas
Figura 11. Temperaturas corporales por estadios de Paleprosa
Figura 12. Comparación de Temperatura corporal, sustrato y aire31
Figura 13. Regresión lineal entre temperatura corporal y temperatura de sustrato
Figura 14. Regresión lineal entre Temperatura corporal y del aire32
Figura 15. Temperaturas operativas registradas por los modelos33
Figura 16. Temperaturas operativas en temporada de Iluvias34
Figura 17. Temperaturas operativas en temporada de secas
Figura 18. Temperaturas operativas por temporada35
Figura 19. Pérdida hídrica de los modelos biofísicos en los diferentes microhábitats

Figura 20. Pérdida hídrica por microhábitats38	1	
Figura 21. Pérdida hídrica por temporada39	)	
Figura 22. Temperatura operativa promedio por microhábitat durante el día40	1	
Figura 23. Temperatura operativa promedio por microhábitat durante la noche		
Tabla 1. Datos térmicos de <i>P. leprosa</i> 35	5	
Tabla 2. Datos térmicos de <i>P. leprosa</i> por estadios y sexos	3	

#### **RESUMEN**

Pseudoeurycea leprosa es una salamandra endémica, relativamente abundante y con amplia distribución en territorio Mexicano. Como todos los anfibios, esta especie depende de la temperatura y la humedad disponible en el ambiente para realizar sus procesos fisiológicos vitales. Sin embargo, el conocimiento sobre su ecología es escaso, a pesar de que en los últimos años se ha observado un declive en sus poblaciones. Por lo tanto, el presente estudio se enfocó en evaluar los requerimientos térmicos e hídricos de esta salamandra en el Parque Nacional la Malinche, ubicado en el Estado de Tlaxcala y Puebla. Se recolectaron un total de 133 individuos, los cuales presentaron una temperatura corporal (*Tc*) promedio de 9.5±0.25°C, y un promedio de temperatura seleccionada en condiciones de laboratorio (Tsel) de 10.8±0.25°C. Se observó que la Tc estuvo estrechamente relacionada con la temperatura del sustrato (Ts). Además, las Tc's presentaron diferencias significativas entre temporadas (Iluvias y secas). Los resultados demostraron que en el área de estudio, esta especie tiene un comportamiento termoconformista. Por otra parte, los modelos biofísicos tuvieron mayor pérdida hídrica en el microhábitat expuestos al sol en condiciones secas. Además, éstos mostraron diferencias significativas entre temporadas. P. leprosa presentó amplios intervalos de temperatura y pérdida hídrica, sin embargo, está última parece ser la mayor limitante. No obstante, la pérdida crítica hídrica de los organismos vivos fue de 34.7%. Los resultados sugirieron que el aumento de temperatura debido al calentamiento global, puede sobrepasar los límites vitales de *P. leprosa*, por lo que puede considerarse una especie susceptible a la extinción.

Palabras clave: Ecofisiología, termorregulación, estado hídrico, salamandra.

#### ABSTRACT

Pseudoeurycea leprosa is an endemic and relative abundant salamander that have a widely distributed in the Mexican territory. Like all amphibians, this species depends of the temperature and humidity available in the environment, to perform its vitals physiological processes. However, the knowledge about the ecology of this salamander is scarce although it is known that its populations are experiencing a decline. Therefore, this study focused on to evaluate the thermal and water requirements of this salamander in the Malinche National Park, located in the state of Tlaxcala and Puebla. They collected a total 133 individuals of P. leprosa. Their mean of body temperature (Tc) was 9.5±0.25°C, and their mean of selected temperature under laboratory conditions (*Tsel*) was 10.8±0.25°C. The *Tc* was closely related to the substrate temperature (Ts). Furthermore, the Tc's had significant differences between seasons (rainy and dry). The results suggest that P. leprosa was a thermoconformer species in the study area. For other hand, biophysical models had the highest water loss in the microhabitat exposed to the sun in dry conditions. In addition, the models showed significant differences between seasons. P. leprosa presented wide temperature ranges and water loss, however, the water loss showed the highest limitations of this species. Nevertheless, the critical water loss of living organisms of this salamander was 34.7%. The results suggest that the rise of temperature due to global warming, may exceed the vitals limits of *P. leprosa*, so it could be considered susceptible to extinction.

**Keywords:** Ecophysiology, thermoregulation, water status, salamander.

# **INTRODUCCIÓN**

México es considerado el cuarto lugar en diversidad de anfibios a nivel mundial con 376 especies aproximadamente, sin embargo, más del 40% de ellos se encuentran amenazados (Parra-Olea *et al.*, 2014). Éstos organismos son considerados indicadores de la calidad ambiental, ya que poseen una piel sensible, por lo que son afectados por diversos factores como los agentes químicos, el incremento de luz ultravioleta, el aumento de la temperatura, la contaminación y la perturbaciones en el ambiente. Lo que los hace un grupo vulnerable a los disturbios ambientales y por lo tanto, susceptible a la extinción (Márquez y Lizana, 2002).

Dentro del Orden Caudata, la familia Plethodontidae es uno de los taxones más diversos, con 455 especies aproximadamente que se distribuyen principalmente en el Continente Americano (Frost, 2016). En México es la familia de salamandras con el mayor número de especies, distribuyéndose 117 especies dentro del país (Parra-Olea *et al.*, 2014 y Frost, 2016). Además, como todos los anfibios, al ser ectotermos, éstos dependen completamente de la temperatura disponible en el ambiente para que puedan realizar sus procesos fisiológicos vitales, incluidos la obtención de oxígeno, la tasa de pulsaciones, locomoción, digestión, crecimiento y funciones inmunes (Gatten *et al.*, 1992; Rome *et al.*, 1992).

Algunos estudios registraron que las salamandras terrestres tienen una temperatura corporal similar a la del sustrato (Stebbins, 1945 y Feder, 1982). Sin embargo, los intervalos de temperaturas corporales voluntarias (temperatura

tolerada voluntariamente) para algunas especies de la familia Plethodontidae son amplios, ya que van de -2 a 26°C, soportando temperaturas más bajas a diferencia de las especies de las familias Ambystomidae (5.8-26.5°C) y Salamandridae (7.8-26.5°C), (Bogert, 1952). Los resultados publicados por Brattstrom (1963) también sugirieron que existe un intervalo amplio en las temperaturas corporales de diferentes especies de la familia Plethodontidae. No obstante, se debe tomar en cuenta que tanto en este estudio como en el de Bogert (1952) se consideran especies de diferentes géneros y que se distribuyen en diferentes hábitats, por lo que seguramente sus requerimientos son diferentes.

Por otra parte, la disponibilidad de agua y humedad afecta los aspectos de la vida de los anfibios, ya que determina la distribución geográfica y local de las especies (Rodríguez *et al.*, 2005). Además, éstas ayudan a mantener el equilibrio en muchos procesos fisiológicos (Boutilier *et al.*, 1979 y Hillman *et al.*, 1985).

Estudios hechos por Spotila (1972), Feder y Pough (1975), y Tracy (1976) mostraron que estos organismos se encuentran en microhábitats húmedos debido a la necesidad de retener agua en su cuerpo. Limitándolos a realizar actividades como la alimentación, la reproducción y la puesta de huevos en estos sitios. (Hillman, 1978; Pough *et al.*, 1983; Beuchat *et al.*, 1984). Esto se debe a que en los anfibios, la actividad física disminuye cuando aumenta la deshidratación, como lo demostraron Feder y Londos (1984) con la especie *Desmognathus ochrophaeus*. Ellos sugirieron que el rendimiento locomotor y la búsqueda de alimento se ven afectados cuando la deshidratación supera el 12%. Por otra parte,

para algunas especies de la familia Plethodontidae, los límites vitales de pérdida de agua pueden ir de los 18-26%. Además, el porcentaje de agua contenido en el cuerpo de estos organismos alcanzó el 81% de su peso total (Littleford *et al.*, 1947).

El género *Pseudoeurycea* es el más numeroso de la familia Plethodontidae dentro de México, este grupo se distribuye desde Sonora y Chihuahua hasta Guatemala. Hasta la fecha se han descrito aproximadamente 40 especies, de las cuales 36 se encuentran exclusivamente en el país (Frost, 2016). A pesar de que la familia Plethodontidae representa más del 30% del total de los anfibios (Parra-Olea, 2014), su estudio en territorio mexicano se ha centrado principalmente en dilucidar sus relaciones taxonómicas y entender su historia biogeográfica (Güizado-Rodríguez y García-Vázquez, 2010). Esto pone en evidencia la carencia de conocimientos en aspectos tanto biológicos como ecofisiológicos. Este tipo de estudios son importantes ya que ayudan a la implementación de estrategias adecuadas para la conservación, protección y manejo de las poblaciones silvestres (García-Vázquez *et al.*, 2006), en especial de especies endémicas y en alguna categoría de riesgo como la del presente estudio.

Pseudoeurycea leprosa es una de las especies más abundantes y ampliamente distribuida en territorio nacional, se puede encontrar desde el Pico de Orizaba hasta la serranía del Ajusco siendo endémica a la Faja Volcánica Transmexicana (Vega y Álvarez, 1992). A pesar de esto, se encuentra dentro de la categoría de Amenazada en la NOM-059-SERMARNAT-2010.

Actualmente, los anfibios están sufriendo una de las peores crisis por la desaparición de diversas especies. La tasa de extinción de este grupo supera la de otros vertebrados (Wake y Vredenburg, 2008) y *P. leprosa* no es la excepción. En los últimos años se ha observado un declive importante en las poblaciones de esta especie, debido a la deforestación de sus hábitats naturales como resultado de la creciente mancha urbana y por las consecuencias del cambio climático (Parra-Olea *et al.*, 1999). Parra-Olea *et al.* (2005) realizaron una proyección para el año 2050 de la especie mediante modelos de nicho ecológico. Los autores concluyeron que se perderá el 75% de su área de distribución basándose en el escenario del calentamiento global y sin incluir las consecuencias de la acelerada deforestación y la actividad agrícola. Si se considera también la poca movilidad de estos organismos, la extinción de esta especie es inevitable (Parra-Olea *et al.*, 2005) si no se conocen los datos ecofisiológicos necesarios para tomar las medidas adecuadas que mitiguen los efectos adversos.

Por lo tanto, el presente estudio evaluó los requerimientos térmicos e hídricos de Pseudoeurycea leprosa dentro del Parque Nacional la Malinche en el Estado de Tlaxcala, México.

#### **ANTECEDENTES**

# Requerimientos térmicos

El estudio de los aspectos térmicos en salamandras ha sido poco estudiado en comparación con otros anfibios. Sin embargo, se ha demostrado que los Urodelos pueden tener temperaturas corporales más bajas que los Anuros y Apodos. No obstante, estos dos grupos puedes soportar temperaturas más altas (Brattstrom, 1963). Con respecto a otras familias de salamandras, Bogert (1952) mencionó que la familia Plethodontidae puede soportar temperaturas inferiores a las especies de las familias Ambystomidae (5.8-26.5°C) y Salamandridae (7.8-26.5°C). Al respecto, el intervalo de temperaturas voluntarias de la familia Plethodontidae puede considerarse amplio (-2 a 26°C), con una media de 14.8°C como sugirieron los datos de Bogert (1952) obtenidos de 27 especies de 9 géneros distintos del estado de Virginia, Estados Unidos de América. Sin embargo, en éste estudio se consideraron diferentes géneros que se distribuyen en diferentes hábitats al igual que la publicación de Brattstrom (1963). Éste autor mencionó que la mayoría de las salamandras no tienen temperaturas preferidas, ya que sólo aceptan las temperaturas que están disponibles, siempre y cuando no sobrepasen sus límites de tolerancia. A su vez, Spotila (1972) mostró que los límites de temperaturas máximas pueden aumentar conforme incrementa la temperatura de aclimatación, pero las temperaturas seleccionadas son estables a pesar de la aclimatación a diferentes temperaturas. Contrariamente, Feder y Pough (1975) determinaron que las temperaturas seleccionadas por Plethodon cinereus aclimatadas a tres diferentes temperaturas (5, 15 y 25°C), tienen un efecto inverso entre la temperatura de aclimatación y las seleccionadas. Cabe mencionar que los

organismos aclimatados a 15°C tuvieron diferencias significativas en la selección de temperatura entre diferentes meses. Por otra parte, estudios hechos por Feder (1982) sobre la ecología térmica de 7 especies de Plethodontidos de los géneros *Pseudoeurycea, Thorius y Bolitoglossa,* demostraron que la termorregulación es afectada por altitud y dependiente del ambiente. Además, se concluyó que este proceso es impreciso en este grupo, a pesar de seleccionar un amplio intervalo de temperaturas en laboratorio. Cabe destacar una de las especies que se consideró en este estudio fue *Pseudoeurycea gadovii,* salamandra que se distribuye en zonas de alta montaña y es simpátrica con *Pseudoeurycea leprosa* en el área de estudio del presente trabajo.

Particularmente para *P. leprosa*, García-Vázquez *et al.* (2006) registró que los microhábitats en donde se encuentran dentro del Parque Nacional la Malinche, presentan humedades entre 50 y 70% en los bosques de encino-pino, y humedades inferiores dentro de los bosques de pino-encino (40-60%), con un intervalo de temperatura entre 13-17°C entre los sitios. Por otra parte, la temperatura corporal promedio de la especie que registró Güizado-Rodríguez y García-Vázquez, (2010) en la Sierra Ajusco fue de 12.8°C. Cabe destacar que las temperaturas entre adultos y jóvenes no tuvieron diferencias significativas, pero estuvieron influenciadas por el aire y el sustrato. Los autores concluyeron que los requerimientos hídricos del organismo limitan el uso de microhábitats, ya que requieren homogeneidad térmica, como troncos que pueden promover la particular forma de termorregulación de esta especie.

#### Requerimientos hídricos.

El estado hídrico es uno de los aspectos más importantes en el desarrollo de los anfibios (Spotila, 1972), ya que el agua representa cerca del 80% del peso total de algunos organismos (Littleford et al., 1947). Para la familia Plethodontidae, los límites vitales hídricos pueden variar entre especies como lo demostraron Littleford et al. (1947) en su estudio, donde compararon la pérdida hídrica de 3 especies. Ellos indicaron que Plethodon cinereus soportó una mayor pérdida de agua (25.85%) a diferencia de Desmognathus fuscus y Eurycea bislineata con una pérdida de 18.06% y 18.04% respectivamente. Un estudio más reciente mostró que la pérdida hídrica máxima de *P. cinereus* puede ser cercana al 28%. Además, los autores mencionaron que las especies terrestres al no tener mecanismo alguno para evitar la evaporación a través de la piel, la constante hidratación de su cuerpo es necesaria para mantener la piel húmeda y funcional como un órgano respiratorio. Por lo que concluyó que la humedad del sustrato es el requerimiento más importante para la sobrevivencia de esta especie (Heatwole y Lim 1961). Sin embargo, Spotila (1972) sugirió que la tasa de deshidratación depende de diferentes factores como el tamaño del organismo y la temperatura ambiental, ya que a menor tamaño y mayor temperatura, la pérdida de agua aumentó. Además, la mayoría de organismos seleccionaron en su estudio la humedad más alta disponible en un gradiente a pesar diferir entre hábitats. Por otra parte, la disponibilidad de humedad influye en el tiempo de forrajeo en estos organismos, ya que éste se ve afectado por la pérdida de agua. Este aspecto es influido por el aire seco que puede deshidratar rápidamente hasta niveles letales a estos organismos, lo cual se observó en Desmognathus ochrophaeus, que disminuye su

rendimiento locomotor y la búsqueda de alimento cuando la deshidratación por aire seco superó el 12% (Feder y Londos, 1984). Un estudio reciente, mostró que la selección de refugios con los parámetros adecuados es de gran importancia para el desarrollo de las salamandras terrestres. Sin embargo, la selección de microhábitats difiere por especie y puede estar influenciada por la estructura morfológica. Ésta les permite mejorar la capacidad de acceder a microhábitats hídricamente y térmicamente favorables para cada especie como lo mencionaron Farallo y Miles (2016).

#### Modelos para estudios de ecofisiología de anfibios

El estudio de aspectos ecofisiológicos como la temperatura y pérdida hídrica a través de modelos ha sido poco explorado, a diferencia de los reptiles, en el que se han implementado modelos de cobre (Hertz *et al.*, 1993). Los métodos desarrollados con los que se han estudiado las relaciones térmicas de lagartos no son fácilmente aplicables a los anfibios, principalmente en especies pequeñas, que al ser manipuladas pueden variar significativamente sus temperaturas corporales (Navas y Araujo, 2000). Como alternativa se han utilizado diferentes métodos como esponjas (O'Connor, 1989; Hasegawa *et al.*, 2005), tubos de cobre con algodón cubierto (Bartelt y Peterson, 2005) y modelos de agar en laboratorio (Spotila y Berman, 1976; Buttemer, 1990). Navas y Araujo (2000) implementaron el uso de modelos de agar para obtener datos de las temperaturas de campo de cuatro especies del género *Scinax*, concluyendo que los modelos son confiables.

Por su parte, los resultados de Tracy *et al.* (2007) sugirieron que no existen diferencias significativas entre los modelos de yeso y los organismos vivos para el monitoreo de temperaturas operativas y la pérdida de agua en anfibios.

El uso de estos modelos nulos para poder entender los aspectos térmicos e hídricos de los anfibios, es fundamental para proyectar los posibles efectos de distintos escenarios climáticos y de cambio de uso de suelo, para dar pauta a crear estrategias para mitigar este declive.

# **HIPÓTESIS**

Debido a la diferencia de temperatura y disponibilidad de agua que existe entre temporadas, los requerimientos térmicos e hídricos de *Pseudoeurycea leprosa* serán diferentes entre la temporada de lluvias y secas.

#### **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar los requerimientos térmicos e hídricos de la salamandra *Pseudoeurycea leprosa* en el Parque Nacional la Malinche, Tlaxcala, México.

#### **OBJETIVOS PARTICULARES**

Evaluar los requerimientos térmicos e hídricos entre temporadas (lluvias y secas).

Determinar la calidad térmica del hábitat, la precisión y la eficiencia de la termorregulación de la especie, así como la pérdida hídrica vital de la especie.

Comparar los requerimientos térmicos en los diferentes estadios de desarrollo y entre sexos.

### **DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE**

Pseudoeurycea leprosa es una salamandra de la familia Plethodontidae de tamaño pequeño y cuerpo cilíndrico con una longitud hocico-cloaca (LHC) promedio de 47.5 mm. Presenta de 10 a 13 pliegues entre las extremidades, su cola es de menor tamaño que su cuerpo, además de que sus patas son cortas, ya que al plegarse se separan entre 3 a 5 surcos costales (Ramírez et al., 2009). Su coloración dorsal consiste en un fondo oscuro con numerosas manchas rojizas en el cuerpo y vientre grisáceo (Canseco y Gutiérrez, 2010).



Fig. 1. Ejemplar de Pseudoeurycea leprosa

Son organismos ovíparos, su reproducción ocurre a fines del verano y principios de otoño (Uribe-Peña, *et al.*, 1999), siendo el mes de agosto donde se presenta la mayor actividad sexual (Pérez, 1995). El tamaño de la puesta es variable, teniendo un intervalo de 14 a 22 huevos, sin embargo, los ovocitos son muy numerosos llegando hasta 700 (Uribe-Peña, *et al.*, 1999). Como las demás salamandras de la familia Plethodontidae su desarrollo es directo, por lo que no existe estado larvario en vida libre (Uribe-Peña, *et al.*, 1999).

Es una especie abundante que se distribuye en la Faja Volcánica Transmexicana, desde el Pico de Orizaba hasta las serranías del Ajusco (Vega y Álvarez, 1992), encontrándose en las montañas de los estados de Puebla, Veracruz, Morelos, Distrito Federal y Estado de México por lo que es endémica de México (Canseco y Gutiérrez, 2010). Habita principalmente en áreas templadas cubiertas de bosques de coníferas y se encuentra principalmente debajo de troncos en descomposición, hojarasca o rocas (Uribe-Peña *et al.*, 1999; Ramírez *et al.*, 2009).

Está categorizada como Amenazada en la NOM-059-SEMARNAT-2010, ésta categoría le fue asignada debido a que sus poblaciones han sido reducidas principalmente por el cambio de uso de suelo por actividades agrícolas y ganaderas o por la creciente urbanización (Parra-Olea *et al.*, 1999; CONABIO, 2001).

# ÁREA DE ESTUDIO

El presente estudio fue realizado en el Parque Nacional la Malinche, ubicado en la zona central oriente de México entre los estados de Puebla y Tlaxcala, forma parte de la Faja Volcánica Transmexicana. Esta área natural protegida cuenta con una superficie total de 46112 ha. y es considerada la quinta montaña más alta del país con una elevación de 4461 msnm (Yarza de la Torre, 1971).



Fig. 2. Ubicación del Parque Nacional la Malinche (Google Earth)

La temperatura media anual es de 15°C y la precipitación media anual es de 800 mm. Se caracteriza por tener un clima templado y húmedo con una temporada seca y fría que va de octubre a marzo (Díaz-Ojeda, 1992).

Existen diferentes tipos de vegetación: bosque de Pino con la dominancia de especies arbóreas pertenecientes al género *Pinus*. Esta comunidad se distribuye

en la montaña a altitudes que van desde los 2500 a 4200 msnm; bosque de oyamel, que se presenta en altitudes que van desde los 2800 y 3500 msnm a veces sobrepasando un poco estos límites, se encuentra principalmente en barrancas, en la mayoría de los casos se trata de un bosque monoespecífico con un estrato arbóreo donde como único componente se encuentra Abies religiosa.; bosque de encino, de los 2200 a 2800 msnm, las principales especies presentes son: Quercus laurina, Q. crassifolia, Q. rugosa y Q. laurina, a menudo Pinus leiophylla forma parte de la asociación; zacatonal, que se considera el tipo de vegetación en el que predominan las gramíneas (Díaz-Ojeda, 1992). Se trata de una comunidad secundaria favorecida por el disturbio, ésta formación vegetal se presenta en forma de manchones relativamente pequeños en altitudes de los 2,600 a los 3,800 msnm, siendo más frecuente encontrar a esta comunidad ocupando los claros en medio del bosque de pino y oyamel, en general tiende a ocupar suelos profundos y ricos en materia orgánica. (CONANP, 2013). Las especies más comunes son: Festuca tolucensis, Muhlenbergia macroura y Stipa ichu y zacatonal alpino, este tipo de vegetación se presenta en las partes más altas de la montaña, entre los 4,000 y 4,300 msnm, constituyendo la vegetación de la cima donde la insolación y el viento son intensos, por lo que la evaporación es alta, la temperatura extremosa. Es una comunidad exclusivamente herbácea, donde se desarrollan plantas de talla pequeña (15-50 cm), los pastos (gramíneas) son las especies más abundantes, las principales especies presentes son: Calamagrostis tolucensis, Festuca tolucensis. Enneapogon sp., Hilaria cenchroides, así como Plantago tolucensis, Senecio mairetianus, Arenaria repens,

Drava nivicola, Cirsium nivale y Castilleja tolucensis entre otras (Díaz-Ojeda, 1992).

El Parque Nacional se caracteriza por albergar un número considerable de especies endémicas a la Faja Volcánica Transmexicana y otras al país, además de especies en alguna categoría de riesgo según la NOM-059-SEMARNAT-2010 (CONANP, 2013).

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### Calibración

Se llevó a cabo una salida prospectiva en el mes de octubre del 2013 al área de estudio para localizar los sitios de muestreo, así como la calibración del modelo biofísico para determinar la temperatura y la pérdida de agua. Con respecto a los requerimientos térmicos, la calibración consistió en tomar la temperatura de un organismo vivo al igual que la del modelo de agar (descripción a detalle más adelante) cada 3 minutos durante 2 horas, mediante un dispositivo medidor y almacenador de datos de temperatura (Squirrel SQ400®), en condiciones controladas de laboratorio, dentro de la Estación Biológica de la Malinche, UATx-UNAM. Se tuvieron lapsos de frío (<10°C) y calor (>15°C) para simular las condiciones naturales a las que se enfrentan estos anfibios, posteriormente se realizó una correlación para determinar si el agar mantiene condiciones térmicas similares a las de un organismo vivo.

Por otra parte, para determinar la deshidratación en condiciones controladas, el experimento consistió en colocar a una salamandra junto a un modelo de agar en una transportadora con papel absorbente como sustrato. Se hicieron mediciones de peso cada media hora en un lapso de 7 horas (de las 18:00 a 01:00 horas) con un total de 5 repeticiones con diferentes organismos y modelos. Se tuvieron periodos de deshidratación (sustrato seco) e hidratación (sustrato húmedo) con el fin de tener más datos del modelo de agar en diferentes condiciones.

#### Requerimientos térmicos

Se realizaron 3 salidas durante la temporada de lluvias (mayo, junio y agosto de 2014) y 3 para la temporada de secas (octubre y diciembre de 2014, y febrero de 2015) donde se hizo una búsqueda exhaustiva en los microhábitats que suelen habitar estos organismos (generalmente troncos en descomposición). Se tomaron las temperaturas corporales (*Tc*) en la parte dorsal del organismo sin manipularlo, de aire (Ta) y sustrato (Ts) con un termómetro de contacto Fluke 52 II®. Posteriormente se determinó el sexo, se pesó y se tomó la Longitud Hocico Cloaca (LHC) de cada organismos, además de determinar el estadio en el que se encontraba según la propuesta de Eliosa (1990) que divide en crías a organismos con una LHC de 15.0-29.0 mm, jóvenes de 30.0-40.0 mm y mayores de 41.0 mm como adultos. Algunos organismos (jóvenes y adultos) fueron llevados a la Estación Biológica de la Malinche UATx-UNAM para obtener las temperaturas seleccionadas (Tsel) que se determinaron mediante un gradiente térmico. Éste consistió en un encierro de acrílico (30x45x25 cm), dividido en 5 carriles. En el extremo frío se colocaron hielos para bajar la temperatura y en el caliente se colocaron 2 focos de 100 watts, el intervalo de las temperaturas fue de los 3 a 22°C. Se registró la temperatura corporal de los organismos cada hora durante un lapso de 6 a 8 horas aproximadamente, posteriormente se liberaron en el lugar donde fueron capturados.

Para determinar las temperaturas operativas (*To*), que se definen como las temperaturas que dispone el organismo en el ambiente, se utilizaron los modelos de agar (que se describen posteriormente) con la diferencia de que fueron

pintados con pintura Vinci® color gris oscuro, estos registraron las temperaturas cada 5 minutos con un Squirrel SQ400®. Se diseñaron cuatro tratamientos en un diseño factorial de 4 x 4, cada uno de los tratamientos (microhábitat) presentaron diferentes características abióticas. Se colocaron 10 modelos por salida en cada microhábitat (tronco seco expuesto, tronco seco con sombra; tronco húmedo expuesto y tronco húmedo con sombra) como lo indica el protocolo para determinar aspectos ecofisiológicos en anfibios (Sinervo, comunicación personal), colocados cerca de las instalaciones de la Estación Biológica de la Malinche. Los modelos fueron colocados dentro y debajo de estos troncos en estado de descomposición, en donde usualmente se encuentran eiemplares de Pseudoeurycea leprosa.

Con estos criterios se obtuvo la precisión termoregulatoria (*db*) la cual es la diferencia entre *Tc* y *Tsel*, además de la calidad térmica del ambiente (*de*) que es la desviación entre *To* y *Tsel*. Cuando los valores de (*db*) y (de) son altos, estos indican baja precisión térmica y baja calidad térmica del ambiente respectivamente, por otra parte, valores bajos o cercanos a 0 indican alta precisión y calidad térmica ideal para la especie (Hertz *et al.*, 1993).

La eficiencia termoregulatoria (E) se obtuvo con la formula E=1-(db/de), entre más cercano a 0, la especie es poco eficiente termorregulando debido a que puede ser termoconformista o habita en condiciones ideales que no le implican un mayor esfuerzo para alcanzar la Tsel, mientras con una E con valores cercanos a 1

indica que es un organismo que termorregula constantemente o habita en lugares donde la temperatura no le favorece para alcanzar su *Tsel* (Hertz *et al.*, 1993).

#### Requerimientos hídricos

Se realizó la metodología para la determinación de aspectos ecofisiológicos de anfibios propuesto por Sinervo (comunicación personal) con algunas modificaciones para mejorar el estudio de la especie (uso de troncos húmedos y secos como los microhábitats donde se encuentra la especie). Los moldes para los modelos se elaboraron a base de popotes con 4 cm de longitud y 0.5 cm de diámetro, los cuales representaron adecuadamente el cuerpo de una salamandra sin contar la cola ni las patas. Posteriormente se rellenaron con una mezcla de 100 ml de agua por 4.7 g de Agar Granulado BP1423-500 Molecular Genetics® para la obtención de los modelos.

Una vez que se tuvieron los modelos calibrados, se pesaron y se llevaron a campo en bolsas herméticas para evitar variaciones en el peso de los modelos debido a la pérdida de agua. Estos fueron colocados en los microhábitats donde se encontraron a los organismos, cada 4 horas se pesó el modelo para determinar la cantidad de agua ganada o perdida *in situ*.

Por otra parte, se colocaron 10 modelos durante cada salida en los 4 diferentes microhábitats anteriormente mencionados (seco expuesto, seco con sombra; húmedo expuesto y húmedo con sombra) para determinar la tasa de pérdida o

ganancia hídrica de los organismos sometidos a las diferentes condiciones que se enfrentan estos anfibios.

Por último, se realizó un experimento mediante el cual se determinó la ganancia máxima de agua con los organismos vivos. Éste constó en hidratar con un sustrato húmedo (papel absorbente) y pesar cada 15 minutos cada individuo hasta que llegara a un peso constante. Para determinar la pérdida máxima vital de agua, se colocó como sustrato papel absorbente y se determinó el peso de los organismos hasta que perdieran la cola, que fue definida como la pérdida voluntaria. Ambas medidas se consideraron como el criterio para comparar con los modelos expuestos a diferentes microambientes antes mencionados.

#### Análisis estadístico

Se realizaron pruebas de normalidad y homogeneidad de varianza para determinar el tipo de estadístico que se utilizó en cada prueba. Cuando los datos cumplieron los requerimientos para el uso de pruebas paramétricas: se utilizaron correlaciones de Person para determinar que el modelo nulo representó de manera adecuada al organismo vivo. Por otra parte, se utilizaron regresiones lineales para determinar si la *LHC*, masa, *Ts* y *Ta* influye en la *Tc*. La comparación entre las *Tc* por sexos y entre la *Tc* de hembras grávidas y no grávidas se realizó mediante una *t* de student. Para contrastar la *Tsel* y la pérdida hídrica entre temporadas se utilizó ANOVA de medidas repetidas. Esta prueba también se utilizó para comparar la pérdida hídrica por microhábitats.

Debido a que los datos *de Tc* por temporada y por estadios, *To, Tsel* y pérdida hídrica presentaron una distribución no normal, estos no cumplieron los supuestos (no paramétricos), por lo tanto: se utilizó la prueba de Mann-Whitney, que determinó si existen diferencias significativas entre la *Tc* y *To* por temporadas. También, se utilizó Kruskal-Wallis para evaluar diferencias de la *Tc* entre estadios.

Todos los análisis y gráficos se hicieron con los programas especializados SigmaPlot (11.0) y SPSS (15.0). El valor de significancia para todas las pruebas estadísticas fue de p<0.05 (Sokal & Rohlf 2000). En el texto se muestran los promedios  $\pm$  error estándar (EE) y tamaño de muestra (n). Por otra parte, en los gráficos de caja se puede apreciar: la mediana, los cuartiles 25% y 75% y los límites inferiores y superior de los datos.

#### RESULTADOS

# Calibración

La calibración del modelo en cuanto a la temperatura tuvo una correlación de  $R^P$ =0.969 (p<0.05), con un intervalo de 9.1-16.2°C (fig. 3). La correlación indica que el modelo biofísico representa adecuadamente la pérdida y ganancia de temperatura de especie en el estudio.

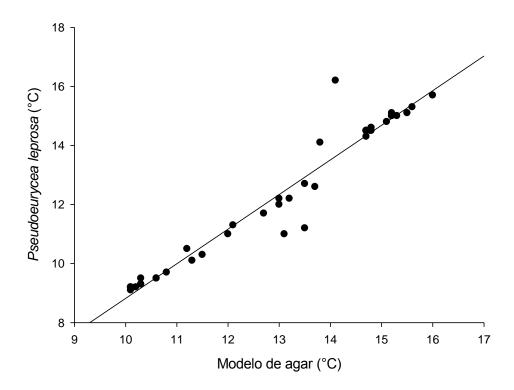


Fig. 3. Correlación entre la temperatura del organismo vivo y el modelo biofísico.

En el caso de estado hidríco entre la especie y el modelo, las correlaciones de las 5 repeticiones dieron una  $R^P$  promedio de 0.971 (P<0.05), con un intervalo de 0.23 a 0.62 gr (fig. 4).

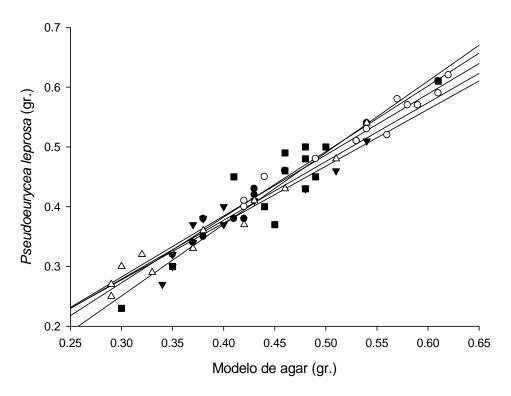


Fig. 4. Correlación entre pérdida hídrica de los organismos vivos y el modelo biofísico.

# Termorregulación

Se recolectaron un total de 134 individuos de *Pseudoeurycea leprosa* dentro del área de estudio de los cuales 30 eran adultos (16 machos y 14 hembras), 54 jóvenes y 50 crías, todos asociados a troncos caídos en proceso de descomposición.

Las regresiones entre Tc, LHC y masa no tuvieron correlación significativa ( $R^2$ =0.0005, P=0.869 y;  $R^2$ =0.049, P>0.582 respectivamente). Lo cual indica que la biomasa y la longitud no influyen en la temperatura corporal de los organismos (Fig. 5 y 6).

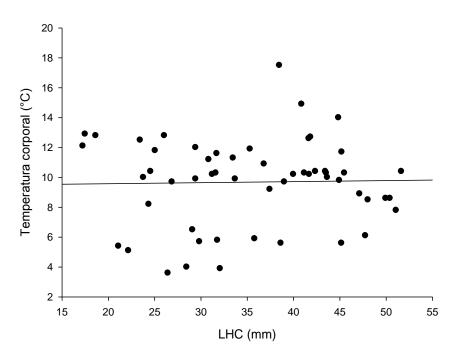


Fig. 5. Regresión lineal entre temperatura corporal de P. leprosa y LHC.

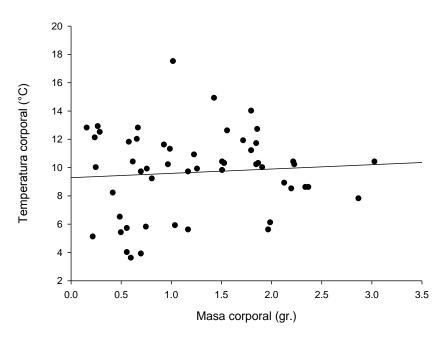


Fig. 6. Regresión lineal entre temperatura corporal de *P. leprosa* y la masa.

La temperatura corporal promedio fue de 9.5±0.25°C (n=133) con un intervalo de 3.6-16.4°C. Por otra parte, el promedio de las temperaturas seleccionadas presentó un valor de 10.8±0.25°C (n=74) con cuartiles de 8.7°C (25%) y 12.7°C (75%).

Sin embargo, la temperatura corporal promedio por temporadas fue de  $10.4\pm0.04^{\circ}$ C (n=70), con intervalos de 3.6-21.2°C para lluvias y  $8.3\pm0.21^{\circ}$ C (n=63) con intervalos de 5.4-16.4°C en secas, teniendo diferencias significativas entre ambas temporadas (U=1133.5, P= <0.001), como se observa en la figura 7. Por otra parte, las temperaturas seleccionadas de jóvenes y adultos (n=74) no tuvieron diferencias significativas por temporada ( $\lambda$  de Wilks=0.10, P=0.170, F5, 12), (fig. 8).

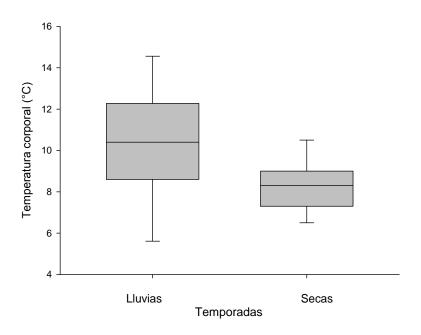


Fig. 7. Temperaturas corporales de *P. leprosa* por temporada.

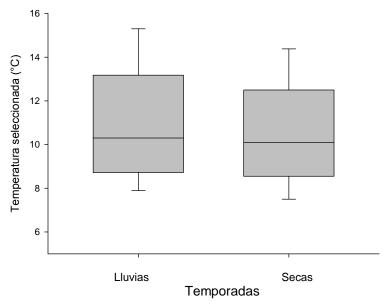


Fig. 8. Temperaturas seleccionadas de *P. leprosa* por temporada.

En la figura 9 se puede observar que no hubo diferencias significativas entre la Tc entre sexos (t=-1.660, g. l=22, P=0.111) presentando un valor de 10.7±0.83°C en machos (n=16) y 8.9±0.43°C en hembras (n=14).

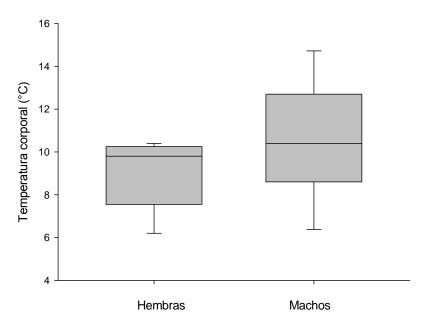


Fig. 9. Temperaturas corporales de *P. leprosa* por sexos.

En el estudio se encontraron hembras grávidas (n=5), el análisis estadístico demostró que no hay diferencias significativas (t=1.930, g.l.=13, P=0.076) en su Tc al resto de las hembras a pesar de que tuvieron temperaturas promedio más altas (9.7±0.49°C y 8.3±0.61°C respectivamente), como se muestra en la figura 10.

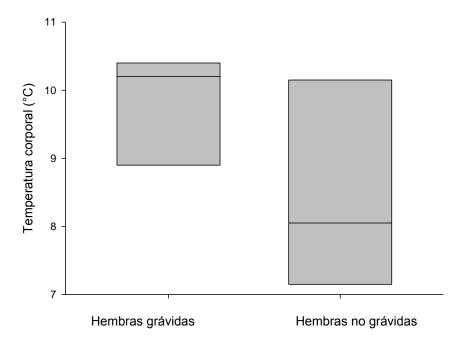


Fig. 10. Temperaturas corporales de las hembras grávidas y hembras no grávidas.

Por otra parte, no hubo diferencias significativas en las temperaturas corporales entre estadios *H*=5.891, g.l=2, *P*=0.053) a pesar de que las crías presentaron valores menores (8.9°C±0.53) en comparación con los otros grupos (10°C±0.46 jóvenes y 10.1°C±0.45 adultos), (fig. 11).

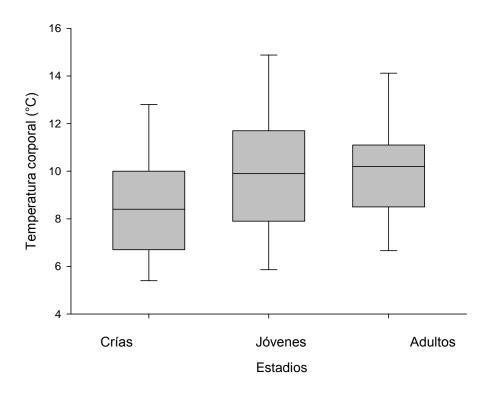


Fig. 11. Temperaturas corporales por estadios de P. leprosa.

La temperatura promedio del sustrato a lo largo del estudio fue de  $9.2\pm0.233^{\circ}$ C, por otra parte, la temperatura del aire tuvo un valor de  $9.6\pm0.238^{\circ}$ C siendo estos dos valores muy cercanos a la temperatura corporal promedio ( $9.5^{\circ}$ C). Sin embargo al realizar las regresiones correspondientes (Figura 13 y 14) el valor de  $R^2$  es más alto entre la temperatura corporal (Tc) y temperatura del sustrato (Ts) ( $R^2$ =0.938, P<0.001) en comparación de la correlación entre Tc y temperatura del aire ( $R^2$ =0.839, P<0.001).

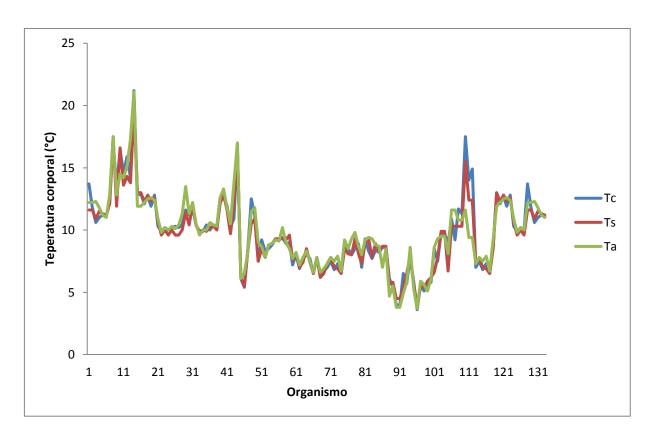


Fig. 12. Comparación de Temperatura corporal, de sustrato y aire

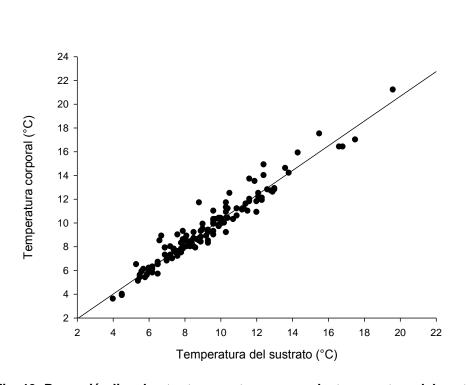


Fig. 13. Regresión lineal entre temperatura corporal y temperatura del sustrato.

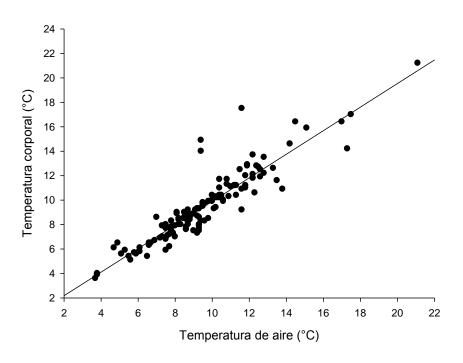


Fig. 14. Regresión lineal entre Temperatura corporal y del aire

Las temperaturas operativas durante el estudio tuvieron un valor promedio de 8.2±0.80°C con intervalos de -1.1 a 17.3. Estas se pueden observar en el gráfico 15 al igual que la temperatura seleccionada promedio.

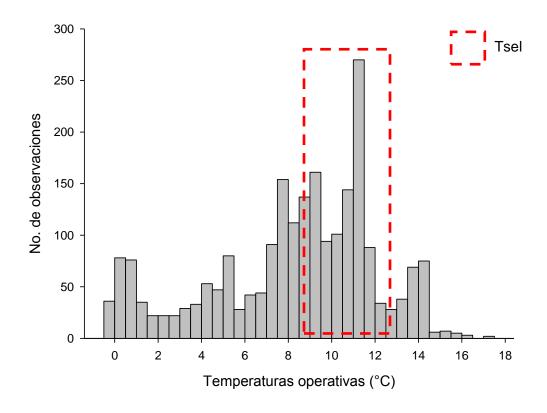


Fig. 15. Temperaturas operativas registradas por los modelos.

En las figura 16 y 17 se pueden observar las temperaturas operativas por temporada, las cuales difieren significativamente entre sí (U=245101.0, P=<0.001 con promedio de 10.1±0.05°C y 4.2±0.13°C (Iluvias y secas respectivamente) como se observa en la figura 18.

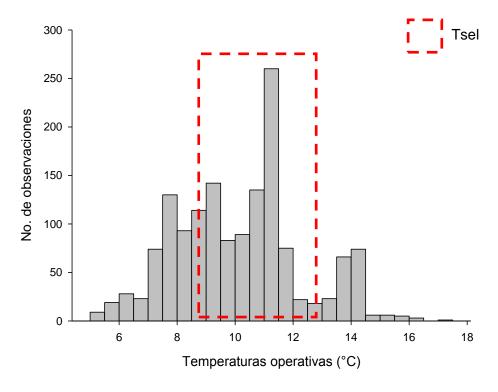


Fig. 16. Temperaturas operativas en temporada de Iluvias

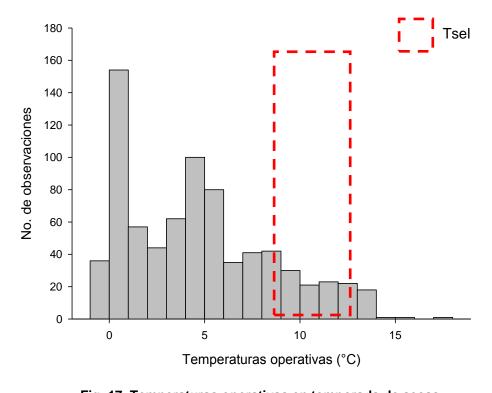


Fig. 17. Temperaturas operativas en temporada de secas.

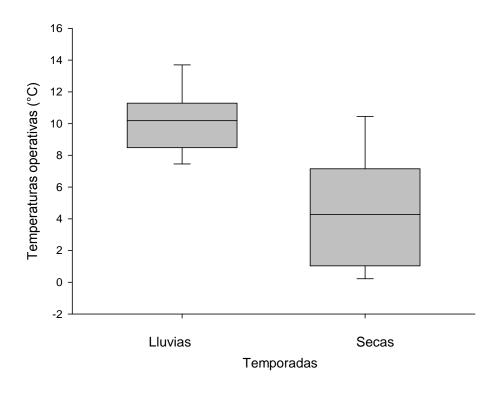


Fig. 18. Temperaturas operativas por temporada.

En cuanto a los índices de termorregulación, se observó una alta precisión en la selección de la temperatura (*db*) y calidad térmica del ambiente (*de*). Por otra parte, los datos obtenidos, además de la eficiencia térmica (*E*), sugieren que es un organismo termoconformista. Todos los datos de termorregulación se pueden observar en la tabla 1 y 2.

Tc (°C)	Ts (°C)	Ta (°C)	To (°C)	Tsel (°C)	Intervalo de Tsel (25-75%)	de (°C)	db (°C)	E
9.4±0.25	9.2±0.233	9.6±0.238	8.2±0.80	10.8±0.25	8.7-12.7	1.8±0.45	0.98±0.25	0.46

Tabla 1. Datos térmicos de P. leprosa

Crías	Jóvenes	Adultos	Hembras	Machos
(°C)	(°C)	(°C)	(°C)	(°C)
8.9°C±0.53	10°C±0.46	10.1°C±0.45	8.9±0.43°C	10.7±0.83°C

Tabla 2. Datos térmicos de P. leprosa por estadios y sexos.

## Pérdida hídrica

La deshidratación (representada en porcentaje en el gráfico) de los modelos biofísicos (n=200) varió en los diferentes microhábitats durante el día y la noche como se observa en la figura 19. Cabe destacar que en el tratamiento expuestoseco se observó la mayor pérdida de agua en ambos lapsos. Por otra parte, se obtuvo una ganancia de peso durante la noche en el microhábitat sombrahúmedo. El experimento de pérdida crítica mostró que los organismos sufren estrés hídrico al perder más de 34.7% de su masa corporal.

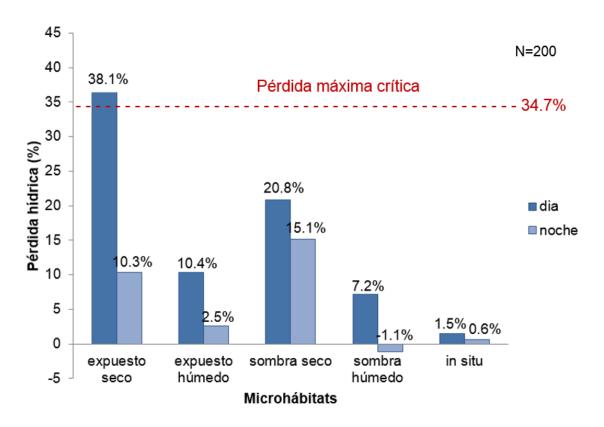


Fig. 19. Pérdida hídrica de los modelos biofísicos en los diferentes microhábitats.

La comparación entre microhábitats para ambas temporadas mostró que no hay diferencias significativas entre éstos ( $\lambda$  de Wilks=0.375, P=0.316, F5, 30). Lo cual puede deberse a la variación intramuestral de los tratamientos (en la fig. 20 se observa la pérdida hídrica promedio en porcentaje por microhábitat).

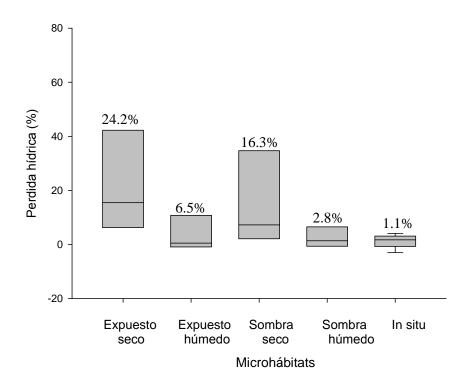


Fig. 20. Pérdida hídrica por microhábitats.

Sin embargo, hubo una diferencia significativa en la perdida hídrica de todos los microhábitats por temporadas ( $\lambda$  de Wilks=0.644, P=0.004,  $F_{5, 12}$ ), como se muestra en la figura 21.

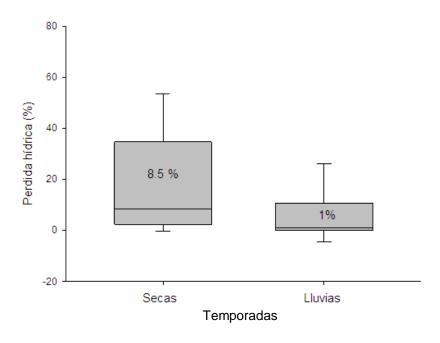


Fig. 21. Pérdida hídrica por temporada.

En los gráficos 22 y 23 se puede apreciar que las *To* promedio y la pérdida hídrica por microhábitat difieren entre tratamientos en el día y la noche. A pesar de que en la noche la temperatura es más homogénea, la pérdida de agua entre microhábitats sigue siendo marcada en los tratamientos secos.

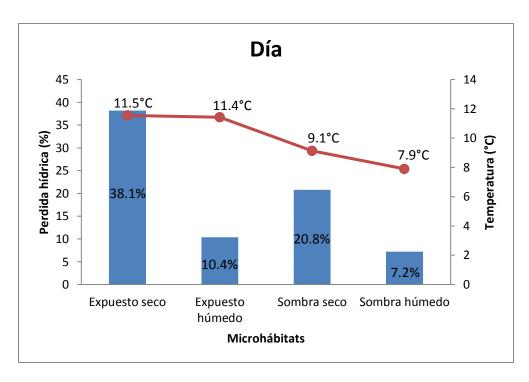


Fig. 22. Temperatura operativa promedio por microhábitat durante el día.

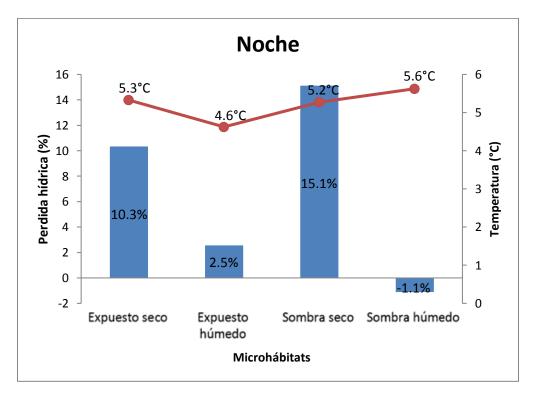


Fig. 23. Temperatura operativa promedio por microhábitat durante la noche.

# DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio mostraron que la *Tc*, la *To* y la pérdida hídrica de *Pseudoeurycea leprosa* difirió entre temporadas. Contrariamente, la *Tsel* no tuvo diferencias significativas. Esto puede sugerir que la especie está adaptada a los cambios entre época de lluvias y secas, pero necesita un intervalo específico para realizar sus actividades fisiológicas Brattstrom (1963). Por lo tanto, la hipótesis planteada no se cumplió, ya que no todos los aspectos térmicos difieren entre temporadas.

# Requerimientos térmicos

La temperatura corporal promedio que presentó la especie en el área de estudio (9.5°C) fue menor a la que registró Güizado-Rodríguez y García-Vázquez en 2010 (12.86°C). La diferencia puede explicarse debido a las temperaturas disponibles que existen en ambas áreas de estudio. Sin embargo otra explicación deriva en el método utilizado para obtener las temperaturas corporales. En el estudio realizado en la Sierra Ajusco se tomaron lecturas de temperaturas corporales vía cloacal. No obstante, en el presente estudio se optó por obtenerlas de la parte dorsal de la salamandra, ya que como mencionó Navas y Araujo (2000), la manipulación de anfibios, en especial de organismos pequeños puede tener sesgos en la temperatura corporal, lo que fue confirmado en la salida prospectiva.

Pseudoeurycea leprosa también presentó temperaturas más bajas que las del estudio de Bogert (1952), pero cercanas a algunas especies como *Plethodon dunii*, y *P. vehiculum*. (10°C y 10.5°C respectivamente). Esto pueden deberse a que este género se encuentra en los mismos microhábitats que la especie del presente estudio. Ya que ambas se encuentran en bosques de coníferas y bajo troncos descompuestos y rocas, alejados de cuerpos de agua a diferencia de otras especies de plethodontidos (Uribe-Peña *et al.*, 1999; Ramírez *et. al.*, 2009; Heatwole, 1962).

Las temperaturas seleccionadas por *Pseudoeurycea leprosa* fueron menores a las de *P. gadovii* (9.3°C aproximadamente) que registró Feder (1982), a pesar de que ambas especies se encuentran en simpatría en el Parque Nacional la Malinche (Solan-Zavaleta *et al*, 2009). Cabe mencionar que en el estudio realizado por Feder, los organismos fueron trasladados a California y aclimatadas a 12°C al menos una semana antes del experimento, lo que pudo afectar el resultado final. No obstante, Spotila (1972) afirmó que las *Tsel* son estables a pesar de la aclimatación a diferentes temperaturas. Contrariamente Feder y Pough (1975) sugirieron que existe un efecto inverso entre la temperatura seleccionada y la temperatura de aclimatación para *Plethodon cinereus*, lo que puede explicar la diferencia de *Tsel* de ambas especies (*Pseudoeurycea leprosa y P. gadovii*). A pesar de esto, se encuentra dentro del intervalo de las *Tsel* de *P. leprosa* considerando los cuartiles de la muestra (8.7-12.7°C), lo que puede indicar que *P. gadovii* puede tener requerimientos térmicos similares a *P. leprosa*.

A diferencia de *Plethodon cinereus* que tuvo diferencias significativas en la selección de temperatura entre diferentes meses (Feder y Pough, 1975), *Pseudoeurycea leprosa* no presentó diferencias marcadas durante los diferentes meses en que se realizaron los gradientes, ya que el promedio de *Tsel* no superaba un grado centígrado por temporadas (Iluvias y secas). Sin embargo, sería interesante realizar estos experimentos con diferentes temperaturas de aclimatación para la especie del estudio.

Cabe mencionar que durante el gradiente térmico se observó a tres organismos seleccionando temperaturas entre los 19-22°C, a diferencia de los demás individuos que registraron valores menores a los 17°C. La selección de temperaturas elevadas suele ocurrir en anfibios enfermos por diferentes patógenos, como el hongo quítrido (*Batrachochytrium dendrobatidis*). Ya que se ha observado que los organismos infectados suelen elevar sus temperaturas corporales con el fin de eliminarlo, debido a que el entorno térmico afecta el progreso de la enfermedad como lo reportó Woodhams *et al.* (2003) en la especie *Litoria chloris* y recientemente demostrado en *Pseudoeurycea leprosa* (Mendoza-Almeralla *et. al.*, 2016). Se tiene registrado que en el Parque Nacional la Malinche hay prevalencia de este hongo (López-Velázquez, 2014; Mendoza-Almeralla *et al.*, 2016), lo que puede explicar el comportamiento anormal de estos ejemplares de *Pseudoeurycea leprosa*.

La diferencia de *Tc* por temporada puede explicarse por las temperaturas operativas, ya que las temperaturas ambientales en la época de lluvias fueron

mayores que durante la época de secas. Al igual que en el estudio realizado por Güizado-Rodríguez y García-Vázquez (2010), no existieron diferencias significativas entre los diferentes estadios. Contrariamente, en la Malinche las crías presentaron la temperatura más baja a diferencia de jóvenes y adultos, esto puede explicarse por la diferencia de métodos utilizados para determinar las *Tc* como se mencionó anteriormente.

Por otra parte, la estrecha relación que tuvo la *Tc* y *Ts* es debido a la necesidad de mantener su piel hidratada, ya que el contacto con un entorno húmedo hace que la temperatura del cuerpo de las salamandras sea similar a la del sustrato (Stebbins, 1945; Feder, 1982), incluso pueden llegar a ser equivalentes (Bogert, 1952).

Los resultados de los índices de Hertz et al. (1993) mostraron que Pseudoeurycea leprosa es precisa en la selección de la temperatura, a pesar de que las To en época de secas se encontraron fuera del intervalo de las Tsel. Esto puede deberse a la diferencia de temperaturas que hay entre temporadas, ya que en secas las temperaturas operativas son menores a las que la especie requiere. Sin embargo, la época de lluvias es térmicamente ideal como lo mostraron las To para esta temporada. Por otra parte, el valor obtenido en el índice de eficiencia térmica y considerando la estrecha relación que tiene la Tc y la Ts, nos indica que la especie se comporta como termoconformista dentro en el área de estudio. Esto se debe a la alta calidad térmica, lo que provoca que la especie no se esfuerce por alcanzar su Tsel, ya que el ambiente se la proporciona de manera natural, al menos en la época de Iluvias. No obstante, Feder (1982) menciono que en salamandras

terrestres es difícil observar un comportamiento termorregulador debido a que los requerimientos hídricos limitan a las especie a refugiarse en microhábitats con alta humedad pero con homogeneidad térmica (Tracy, 1976). A diferencia de las salamandras que habitan zonas tropicales y que pueden regular su temperatura de una manera más exacta debido a que en su hábitat presenta una humedad relativa elevada (Feder, 1982), las especies que se encuentran en zonas templadas no pueden regular su temperatura corporal eficientemente por el riesgo de deshidratación. La limitante mencionada puede explicar por qué la especie en el estudio no se comporta como un organismo termorregulador. Además, se debe considerar que este proceso en plethodontidos puede pasar desapercibido por el hombre, ya que puede presentar la capacidad de termorregular eficazmente pero no lo puede aprovechar por las limitantes que presenta su piel permeable.

A pesar de que en el estudio no se hicieron pruebas de temperaturas máximas y mínimas, los datos obtenidos sugieren que la especie soporta un amplio intervalo de temperaturas ya que en campo presentaron una temperatura mínima de 3.6°C y en el gradiente, una temperatura máxima de 22°C. Éste comportamiento concuerda con el intervalo registrado por Bogert (1952) que va de los -2°C a los 26.2°C, a diferencia de otras familias de salamandras como Salamandridae (7.8-27°C) y Ambystomidae (5.8-26.5°C), la familia Plethodontidae soporta temperaturas menores. Cabe destacar que el rango de temperaturas presentado por *Pseudoeurycea leprosa* es cercano al de *Ensatina eschscholtzi* (1-20°C) que mostró Bogert (1972). Spotila (1972) mencionó que las temperaturas críticas

máximas aumentan conforme se eleva la temperatura de aclimatación. Se sugiere realizar este tipo de experimentos de Temperaturas críticas mínimas y máximas con la especie para observar si *Pseudoeurycea leprosa* tiene esta capacidad.

#### Requerimientos hídricos

El microhábitat donde los modelos biofísicos registraron menor pérdida hídrica fue In situ, sin embargo en sombra-seco hubo una ganancia de agua por la noche lo que puede favorecer a la especie al recuperar una parte del agua pérdida durante el día. No obstante, en expuesto seco por el día presentó una pérdida hídrica que es letal para Pseudoeurycea leprosa, además, todos los microhábitats secos superaron la pérdida hídrica de 12%, valor en el que el desempeño locomotor disminuye como lo menciona Feder y Londos (1984). A pesar de esto, no se encontraron diferencias significativas entre ningún microhábitat.

Por otra parte, la pérdida de agua de los modelos entre temporadas fue muy marcada, esto se debe a la disponibilidad de agua que existe en temporada de lluvias, ya que hace que tanto la humedad ambiental como la de los microhábitats aumenta y como consecuencia disminuye la pérdida de agua en estas salamandras.

Las salamandras terrestres no cuentan con mecanismos para evitar la pérdida de agua a través de la piel, por lo que la humedad del sustrato es probablemente el factor ecológico más importante de estas especies (Heatwole y Lim, 1961). Esto

se vio claramente reflejado en este estudio, ya que como se mostró en las figuras 22 y 23, se puede apreciar que la humedad del microhábitat influye más que las *To*. En especial en la noche donde a pesar de que las temperaturas son más homogéneas, la pérdida hídrica sigue siendo mayor en los microhábitats secos. Esto se debe a la absorción que ejercen los troncos secos en los modelos de agar u organismos vivos. Sin duda alguna, los troncos en estado de descomposición son un factor de gran importancia para esta especie, ya que no sólo les provee refugio, sino también de un microhábitat húmedo en el cual pueden realizar sus procesos fisiológicos vitales. La formar de conservar estos microhábitats ideales radica en disminuir la tala de bosques, ya que la cobertura vegetal provee de una sombra natural y por consecuencia, disminuye la pérdida hídrica de la especie.

La pérdida máxima de agua que se registró en el estudio fue de 34.7%, éste dato es superior a los que presentó Littleford et al. (1947) para Plethodon cinereus (25.85%), Desmognathus fuscus (18.06%) y Eurycea bislineata (18.04%) y por Heatwole y Lim, (1961) quien reportó un porcentaje mayor para P. cinereus (27.8%). A pesar de que está salamandra se encuentra en hábitats similares a los de Pseudoeurycea leprosa, y ambas pueden ser encontradas lejos de cuerpos de agua, la discrepancia de pérdida hídrica entre P. cinereus y P. leprosa sugieren qué ésta última puede soportar un gran porcentaje de pérdida de agua sin ser letal, siendo más eficiente que otras especies. Esto sumando el amplio intervalo de temperaturas registradas a lo largo del estudio, puede explicar por qué es una

de las especies más abundantes y de mayor distribución dentro del país (Vega y Álvarez, 1992).

El presente estudio sugirió que a pesar de que *P. leprosa* tiene un intervalo amplio de temperatura y pérdida hídrica, el calentamiento global que estamos enfrentando puede hacer que sobrepase sus límites vitales. No obstante, la temperatura no parece ser la mayor limitante para la supervivencia de ésta especie, ya que pueden tolerar más de 22°C, si la humedad requerida está presente. Sin embargo, la pérdida hídrica parece ser el mayor estresor en la fisiología de las salamandras estudiadas como lo menciona Heatwole y Lim (1961). Cuando el estado hídrico de los organismos desciende por debajo de 34.7% el daño puede ser irreversible y hasta letal, pudiendo ser el principal promotor del declive de sus poblaciones. Estos niveles de mayor exposición a factores adversos pueden ser promovidos por el cambio climático, y en una sinergia por la deforestación de los bosques debido a actividades humanas.

Sin embargo, hacen falta más estudios de este tipo para poder entender los requerimientos ecofisiológicos de *Pseudoeurycea leprosa* y planificar estrategias adecuadas para mitigar el declive, no sólo de esta especie, también de los anfibios en general, ante la crisis de extinción que están enfrentando (Wake y Vredenburg, 2008).

## **CONCLUSIONES**

- Pseudoeurycea leprosa demostró ser una especie que está expuesta a diferentes condiciones térmicas e hídricas entre época de lluvias y secas, a pesar de que su Tsel es constante a lo largo del año. Lo cual indica que la especie necesita de un intervalo específico para realizar sus procesos biológicos.
- Los índices de termorregulación indicaron que la calidad y la precisión térmica son altas. Además, los datos obtenidos sugirieron que la especie se comporta como un organismo termoconformista. Por otra parte, la pérdida hídrica máxima que presentó fue de 34.7% de su masa corporal, esto sugiere que la especie pueden soportar una gran pérdida de agua a pesar de ser la mayor limitante para su supervivencia.
- Finalmente, a pesar de que los machos y los adultos presentan valores más altos de temperatura corporal en sus respectivos grupos, no hubo diferencias significativas entre sexos ni estadios. Lo que puede indicar que el declive de las poblaciones debido al aumento de temperatura, puede afectar de la misma manera a todos los individuos de la especie.

#### LITERATURA CITADA

- Arias, S. 2011. Termorregulación y comportamiento forrajero de Phrynosoma orbiculare en el arenal, Nicolás Romero, Edo. De México. Tesis de Maestría. UNAM. 44 pp.
- ➤ Bartelt, P. E., y C. R. Peterson. 2005. Physically modeling operative temperatures and evaporation rates in amphibians. Journal of Thermal Biology 30. 93-102 p.
- ➢ Beuchat, C. A., Pough, F. H. y Stewart, M. M. 1984. Response to simultaneous dehydration and thermal stress in three species of Puerto Rican frogs. Journal of Comparative Physiology B, 154(6). 579-585 p.
- ➤ Bishop, S. C. 1947. Handbook of salamanders. Ithaca, N. Y. Comstock.
- ➤ Bogert, C. M. 1952. Relative abundance, habitats, and normal thermal levels of some Virginian salamanders. Ecology 33:16-30 p. Bohnsack, K. K.
- ➢ Boutilier, R. G. D. J. Randall, G. Shelton, y D. P. Toews. 1979. Acid-base relationships in the blood of the toad, *Bufo marinus*. J. Exp. Biol. 82. 345-355 p.
- ➤ Buttemer, W. A. 1990. Effect of temperature on evaporative water loss of the Australian tree frogs *Litoria caerulea* and *Litoria moris*. Physiological Zoology 63. 1043-1057 p.
- Canseco, L y Gutiérrez, M. 2010. Anfibios y reptiles del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. CONABIO. Fundación para la reserva de la biosfera Cuicatlán. 302 pp.

- ➤ CONABIO. 2001.
- CONANP. 2013. Programa de manejo Parque Nacional la montaña Malinche o Matlalcuéyatl. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales. 205 pp.
- Díaz-Ojeda, E. V. 1992. Informe Nacional del Parque Nacional la Malinche. Jefatura del programa Forestal de Tlaxcala. Gobierno de Tlaxcala, Tlaxcala.
- Eliosa, L. H. 1990. Distribución de tres salamandras terrestres (Amphibia: Plethodontidae), en el Parque Nacional Zoquiapan. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- ➤ Farallo, V. y Miles, D. 2016. The importance of microhabitat: a comparison of two microendemic species of *Plethodon* to the widespread *P. cinereus*. Copeia, 2016(1). 67-77 p.
- Feder, M. 1982. Thermal ecology of neotropical lungless salamanders (Amphibia: Plethodontidae): environmental temperatures and behavioral responses. Ecology, 63(6) 1665-1674 p.
- ➤ Feder, M. y F. H. Pough. 1975. Temperature selection by the red-backed salamander, *Plethodon c. cinereus* (Green) (Caudata: Plethodontidae). Comparative Biochemistry and Physiology 50A. 91-98 p.
- Feder, M. y Londos, P. 1984. Hydric constraints upon foraging in a terrestrial salamander, *Desmognathus ochrophaeus* (Amphibia: Plethodontidae). Oecologia, 64 (3). 413-418 p.

- Fernández, J. y López-Domínguez, J. 2005. Biodiversidad del Parque Nacional Malinche.
- ➤ Flores-Villela, O. 1993. Herpetofauna mexicana. Special Publication of Carnegie Museum of Natural History 17. 1-73 p.
- ➤ Flores-Villela, O. y L. Canseco, 2004, Nuevas especies y cambios taxonómicos para la herpetofauna de México. Acta Zoológica Mexicana (n.s.) 20(2):115-144 p.
- Frost, Darrel R. 2016. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0 (Date of access). Electronic Database accessible at <a href="http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html">http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html</a>. American Museum of Natural History, New York, USA.
- García-Vázquez, U. O., G. Gutiérrez-Mayén, C. A. Hernández-Jiménez y V. Aurioles-López. 2006. Estudio de la densidad poblacional y algunos aspectos ecológicos de *Pseudoeurycea leprosa* en el Parque Nacional la Malinche, Tlaxcala, México. Boletín de la Sociedad Herpetológica Mexicana. 14(2): 10-17 p.
- Gatten, R.E. Miller, K. Full, R. J., 1992. Energetics at rest and during locomotion. In: Feder, M. E., Burggren, W. W. (Eds.), Environmental Physiology of the Amphibians. University of Chicago Press, Chicago. 314-377 p.
- Gómez-Álvarez, G. y Reyes-Gómez, S. 2006. En: Ramírez-Bautista, A. Canseco-Márquez, L. y Mendoza-Quijano, F. (Eds.). Inventarios Herpetofaunísticos de México: avances en el conocimiento de su biodiversidad. Publicación Especial, Sociedad Herpetológica Mexicana, A.C. 241-250 p.

- Güizado-Rodríguez, M y García-Vázquez. 2010. Thermal ecology of Pseudoeurycea leprosa (Caudata: Plethodontidae) from Sierra Ajusco. British Herpetological Society. The herpetological bulletin number 111. 15-18 p.
- Guzmán, S. 2011. Anfibios y reptiles de Veracruz, Guía ilustrada. Consejo Veracruzano de Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico. México. 32 p.
- Hasegawa, M., Y. Suzuki, y S. Wada. 2005. Design and performance of a wet sponge model for amphibian thermal biology. Current Herpetology 24. 27-32 p.
- ➤ Heatwole, H. y Lim, K. 1961. Relation of substrate moisture to absorption and loss of water by the salamander, *Plethodon cinereus*. Ecology, 42 (4) 814-819 p.
- Hertz, P. Huey, P. y Stevenson R. 1993. Evaluating temperature regulation by field-active ectotherms: the fallacy of the inappropriate question. American Naturalist 142: 796-818 p.
- ➤ Hillman, S. S. 1978. The roles of oxygen delivery and electrolyte levels in the dehydrational death of *Xenopus laevis*. J Comp Physiol 128.169-175 p.
- ➤ Hillman, S. S. P. C. Withers, M. S. Hedrick, y P. B. Kimmel. 1985. The effects of erythrocythemia on blood viscosity, maximal systemic oxygen transport capacity and maximal rates of oxygen consumption in an amphibian. J. Comp. Physiol. 155B. 577-581 p.

- ➤ Littleford, R. A. Keller, W. F. y Philips, N. E. 1947. Studies on the vital limits of water loss in the plethodont salamanders. Ecology 28 (4). 440-447 p.
- ▶ Lopez, A. 2014. Dinámica estacional de la infección por hongo quítrido Batrachochytrium dendrobatis en una población de salamandras de la especie Pseudoeurycea leprosa (Cope, 1869) en el Parque Nacional la Malinche. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza UNAM. 47 pp.
- ➤ Loranca-Bravo, S. J, Rodríguez-Estrella, R. Bautista O, A. y Cuatianquiz-Lima, C. 2013. Nuevos registros de aves en el Parque Nacional la Malinche, Tlaxcala, México. Acta Zoológica Mexicana (n.s.), 29(2): 441-447 p.
- Márquez, R. y Lizana M. Conservación de los anfibios y reptiles de España.
   2002. Atlas y libro rojo de los anfibios y reptiles de España.
- Mendoza- Almeralla, C. López-Velázquez, A. Longo, A. y Parra-Olea, G. 2016. Temperature treatments boost subclinical infections of Batrachochytrium dendrobatidis in a Mexican salamander (Pseudoeurycea leprosa). Revista Mexicana de Biodiversidad 87. 171–179 p.
- Min, M. S., S. Y. Yang, R. M. Bonett, D. R. Vieites, R. A. Brandon y D. B. Wake. 2005. Discovery of the first Asian plethodontid salamander. Nature 435:87-90 p.
- Navas, C. y Araujo, C. 2000. The use of agar models to study amphibian thermal ecology. Journal of Herpetology 34 (2). 330-334 p.
- ➢ O'Connor, M. P. 1989. Thermoregulation in anuran amphibians: Physiology, biophysics, and ecology. Unpubl. Ph.D. diss., Colorado State University, Fort Collins.

- Parra-Olea, G. Flores-Villela, O. Mendoza-Almeralla, C. 2014. Biodiversidad de anfibios en México. Revista Mexicana de Biodiversidad 85.
- Parra-Olea, G. García-Paris. M. y Wake, D. 1999. Status of some populations of Mexican salamanders (Amphibia: Plethodontidae). Revista de Biología Tropical 47: 217-223 p.
- ➢ Parra-Olea, G. Martínez-Meyer, E. y Pérez-Ponce de León, G. 2005. Forecasting climate change effects on salamander distribution in the highlands of central México. Biotropica 37 (2). 202-208 p.
- Pérez, L. I. 1995. Biología reproductiva y hábitos alimentarios de la salamandra Pseudoeurycea leprosa y su relación con el ciclo de los cuerpos grasos e hígado. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala, UNAM. 76 pp.
- Pough, F. H, Taigen T. L. Stewart, M. M, Brussard, P. F. 1983. Behavioral modification of evaporative water loss by a Puerto Rican frog. Ecology 64. 244-252 p.
- Programa de Manejo del Parque Nacional la Malinche.
- Ramírez, A. Uri Hernández-Salinas, U. O. García-Vázquez, A. Leyte y L. Canseco-Márquez. 2009. Herpetofauna del Valle de México, diversidad y conservación. Comisión Nacional para el Uso de la Biodiversidad. Universidad Autónoma de Hidalgo. 210 pp.
- ➤ Rodriguez, M. Belmontes, J. Hawkins, B. 2005. Energy, water and large-scale patterns of reptile and amphibian species richness in Europe. Acta Oecol. 28, 65–70 p.

- ➤ Rome, L. Stevens, E. y John-Adler, H. 1992. The influence of temperature and thermal acclimation on a physiological function. In: Environmental physiology of the amphibians. Feder, M. y Burggren, W. University of Chicago Press.183-205 pp.
- Sanabria, E. Quiroga, L. y Acosta, J. 2003. Ecología térmica de una población de *Bufo arenarum* (Anura: Bufonidae) en un humedal del centro-oeste de Argentina. Bol. Soc. Herpetol, Mex. Vol. II (2). 33-41 p.
- Solano-Zavaleta, I. García-Vázquez, U. O. Mendoza-Hernández, A. 2009. Notas sobre la distribución geográfica de las salamandras *Pseudoeurycea gadovii* y *Pseudoeurycea melanomolga* (Caudata: Plethodontidae). Revista Mexicana de Biodiversidad 80 (2).
- ➤ Spotila, J. R. 1972. Role of temperature and water in the ecology of lungless salamanders. Ecological Monographs 42. 95-125 p.
- ➤ Spotila, J. R., and E. N. Berman. 1976. Determination of skin resistance and the role of the skin in controlling water loss in amphibians and reptiles. Comparative Biochemistry and Physiology A 55. 407-412 p.
- Stebbins, R. C. 1945. Water absorption in a terrestrial salamander. Copeia 1945. 25-28 p.
- ➤ Tracy, C. R. 1976. A model of the dynamic exchanges of water and energy between a terrestrial amphibian and its environment. Ecological Monographs 46. 293-326 p.

- Uribe-Peña, Z., Ramírez-Bautista, A. y Casas-Andreu, G. 1999. Anfibios y reptiles de las Serranías del D.F., México. Instituto de Biología, UNAM. Cuaderno del Instituto de Biología, 32:112. México. 119 pp.
- Vega, L. y Álvarez, T. 1992. Herpetofauna de los volcanes Popocatépetl e Iztaccíhuatl. Acta Zoológica Mexicana (n.s.) 15:1-25 p.
- García-Vázquez U. O., M. G. Gutiérrez-Mayén, C. A. Hernández-Jiménez y
   V. Aurioles-López 17 (15).1-25 p.
- ➤ Wake, D. B., L. R. Maxson y G. Z. Wurst. 1978. Genetic differentiation, albumin evolution, and their biogeographic implications in plethodontid salamanders of California and Southern Europe. Evolution 32:529-539 p.
- ➤ Wake, D. y V. Vredenburg. 2008. Are we in midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. Proceedings of the National Academy of Sciences. 105:11466-11473 p.
- Windfield, J. 2008. Fitogeografía de Pseudoeurycea leprosa (Caudata: Plethodontidae) empleando ADN mitocondrial (Citocromo B). Tesis de Maestría. Instituto de Biología, UNAM. 125 pp.
- ➤ Woodhams, D. C. Aliord, R. A. y Marantelli, G. 2003. Emerging disease of amphibians cured by elevated body temperature. Diseases of aquatic organisms 55. 65-67 p.
- Yarza, E. 1971. Volcanes de México. Universidad de Texas. 237 pp.