



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN
Y DE LA SALUD ANIMAL
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ECOLOGÍA DE COMUNIDADES DE LOS PARÁSITOS EN ANFIBIOS MEXICANOS

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

PRESENTA:
MÓNICA JACINTO MALDONADO

TUTOR PRINCIPAL:
GERARDO SUZÁN AZPIRI
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, UNAM

COMITÉ TUTOR:
ROSA ELENA SARMIENTO SILVA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, UNAM

ANDRÉS GARCÍA AGUAYO
INSTITUTO DE BIOLOGÍA
PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y SALUD ANIMAL

CIUDAD UNIVERSITARIA CD. MX, AGOSTO 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA

A mis padres, a mi hermano y a mis amigos

AGRADECIMIENTOS

La presente investigación fue realizada gracias a la beca otorgada por CONACYT 421971. El trabajo de campo y de laboratorio fue financiado parcialmente por Scott Neotropical Fund (Cleveland Metroparks Zoo y Cleveland Zoological Society).

Agradezco al Programa de apoyo a los estudios de posgrado (PAEP) por el financiamiento otorgado para la asistencia a congresos a nivel internacional y por el apoyo otorgado para realizar la estancia de investigación al Departamento de Pathobiology de la Facultad de Medicina Veterinaria en Utrecht, Holanda.

Agradezco a Gerardo Suzán Azpíri por darme la oportunidad de trabajar con él durante este período de tiempo, por su asesoría y orientación. Agradezco también por su buena actitud ante los desafíos que enfrentamos durante la realización de este proyecto.

A la Doctora Rosa Elena Sarmiento Silva por su apoyo de muchas formas durante este proceso, por sus consejos y colaboración.

A Andrés García Aguayo por las facilidades que me dio en campo, por sus comentarios y contribuciones. Pero, sobre todo por su ánimo y buen humor en las reuniones de trabajo.

A Gabriel García Peña por formar parte de esta investigación, porque su integración le dio al trabajo otro giro, por sus asesorías, apoyo en campo y en los manuscritos generados de este proyecto.

A mis sinodales Ana María Salazar y Guadalupe Prado-Ochoa porque sus comentarios enriquecieron la presente investigación y porque su participación ha sido muy importante en momentos decisivos de esta tesis.

A Ricardo Paredes León por ser mi maestro y amigo, por su enseñanza y asesoría en los escritos generados en esta tesis.

A Guillermo Salgado Maldonado por su apoyo y buena disposición en todo momento. Por compartirme su experiencia académica.

A Margarita Ojeda Carrasco por su colaboración y por su grata amistad.

A Bernardo Saucedo por su apoyo y colaboración, porque a raíz de ello surgió una gran amistad y más colaboraciones.

A Daniel Hernández Cardozo por su gran amistad y apoyo, por compartir tantas historias y carcajadas en campo. A Omar Suarez, Jesus Sotomayor, Miguel Rivas, Alana Atl, Griselda Montiel, Nayelli Ruiz, Gerardo Contreras, Jorge Toledo y a Gabriel García por su apoyo en campo. Muchísimas gracias... sin su apoyo no hubiera sido posible obtener los datos que se analizaron en la presente tesis.

A la estación de Biología Chamela Cuixmala y a su personal, por su hospitalidad y por las facilidades que nos dieron para realizar este proyecto de investigación.

A la Colección Nacional de Ácaros (CNAC) por las facilidades otorgadas para la consulta del material especialmente a la técnica Griselda Montiel. Agradezco también por su apoyo y comentarios para enriquecer la presente investigación a Ana Lilia, Jocelyn, Dariana, Fernanda, Margarita, Ricardo y Alejandro.

Agradezco al grupo de Ecología de Enfermedades especialmente a Paola Martínez, Maria José Tolsa, André Rubio, Rafael Ojeda y a Oscar Rico por su apoyo y por haber sido mis maestros.

Al grupo de Microbiología a Julia, Erika, Laurita, Ariadna, Naomi, Marion, Pepe, Tere, Alicia, Araceli, Pablo, Hugo, Lalo. A las Doctoras Laura Cobos y Liliana, a Don Mario y a Armando por las facilidades, por el gran apoyo y amistad y por haber compartido conmigo tan buenos momentos.

A todo el grupo de Microbiología Agropecuaria especialmente al Doctor Daniel Martínez, a la Doctora Estela Méndez y a Lizeth Campos. Por abrirme las puertas de su laboratorio, por todo su apoyo y enseñanzas.

A otros amigos que tanto quiero que han estado conmigo a Rocio, Reyna, Liliana, Myriam, Eduardo, Jorge Luis, Antonio, Isaura, Claudia, Berenice, Gaby, Epifanio y Joel.

A Daniel Fournier por todos los momentos compartidos, por todo tu apoyo y enseñanzas.

Agradezco a mis padres y hermano por motivarme a luchar por lo que quiero y por su apoyo y amor incondicional.

TRABAJOS GENERADOS DURANTE EL DOCTORADO

ARTÍCULOS EN REVISTAS INDIZADAS

Publicados y enviados:

Mónica Jacinto-Maldonado, Ricardo Paredes-León, Guillermo Salgado-Maldonado, Andrés García y Gerardo Suzán. 2016. New records of amphibians parasitized by chiggers in Los Tuxtlas Biosphere Reserve, Mexico, and taxonomic notes on *Hannemania mexicana* (Acariformes: Prostigmata: Leeuwenhoekidae) Systematic and applied acarology, 21(1), 13-20.

Jacinto-Maldonado M, García Peña. G, Ojeda M, Silva Sarmiento R, Martínez G., Saucedo B, Paredes-León R, García A, Suzán G. 2018. Biotic and abiotic factors related to *Hannemania hylae*, *Batrachochytrium dendrobatidis* and *Ranavirus* on the endemic frog *Tlalocohyla smithii* (Anura: Hylidae)

Bernardo Saucedo, Joseph Hughes, Annemarieke Spitzen-van der Sluijs, Natasja Kruithof, Marc Schills, Jolianne M. Rijks, Mónica Jacinto-Maldonado, Nicolás Suarez, Olga L. M. Haenen, Michal Voorbergen-Laarman, Jan van den Broek, Maarten Gilbert, Andrea Gröne, Steven J. van Beurden & M. Hélène Verheije. 2018. Ranavirus genotypes in the Netherlands and their potential association with virulence in water frogs (*Pelophylax* spp.) Emerging microbes & infections, 7(1), 56.

INDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
REVISIÓN DE LITERATURA	9
Causas asociadas a las declinaciones en anfibios a nivel mundial	
Estatus de conservación de anfibios a nivel mundial y en México	
Ecología y epidemiología de macro y micro parásitos en anfibios mexicanos	
DISEÑO EXPERIMENTAL	23
OBJETIVO GENERAL, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS PARTICULARES	24
CAPÍTULO 1.	27
Diversidad de ácaros presentes en tres especies de anfibios y su asociación con las características morfológicas del hospedero en la Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas Veracruz	
New records of amphibians parasitized by chiggers in Los Tuxtlas Biosphere Reserve, Mexico, and taxonomic notes on <i>Hannemania mexicana</i> (Acariformes: Prostigmata: Leeuwenhoekiidae)	
CAPÍTULO 2.	36
Biotic and abiotic factors related to <i>Hannemania hylae</i> , <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> and Ranavirus on the endemic frog <i>Tlalocohyla smithii</i> (Anura: Hylidae)	
Apéndices, tablas y figuras	50
CAPÍTULO 3.	66
Efectos de la antropización del ambiente en las asociaciones y ensamble de parásitos en anfibios mexicanos	
CONCLUSIONES GENERALES	99

RESUMEN

En las últimas décadas las poblaciones de anfibios se han reducido dramáticamente a nivel mundial debido a diversas causas, dentro de las principales se encuentran la destrucción y perturbación de su hábitat y las enfermedades emergentes ocasionadas por micro y macroparásitos (hongos, virus, helmintos, etc). Sin embargo, los procesos ecológicos que intervienen en las infecciones de los distintos parásitos en los anfibios son poco entendidos. De este modo, para profundizar en dicho conocimiento, se estudiaron los factores intrínsecos y extrínsecos asociados a las relaciones parásito-hospedero. Dentro de los intrínsecos se consideraron las características morfológicas del hospedero, debido a que diversos autores mencionan que, un gran tamaño y peso facilitan que el hospedero sea más propenso a ser infectado. Los factores bióticos y abióticos del hábitat se consideraron como extrínsecos. Diversas investigaciones sustentan que variables como la temperatura o humedad ambiental influyen en las infecciones. Otros autores mencionan que la pérdida de hábitat o el cambio de uso de suelo es lo que impacta en las relaciones parásito y hospedero y en sus infecciones. Por lo anterior, el objetivo en esta tesis fue determinar diversos factores intrínsecos y extrínsecos implicados en las asociaciones parásito-hospedero en anfibios mexicanos. Esta investigación se presenta en tres capítulos, en el primero se analizó la diversidad de ácaros, provenientes de tres especies de anfibios recolectados en la Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas, se estudió la asociación entre la presencia de parásitos con las características morfológicas de los hospederos. Los resultados mostraron que no existió una relación significativa entre los niveles de infestación de los parásitos y las variables morfológicas de los hospederos. En el segundo capítulo se registraron distintas variables bióticas y abióticas en los sitios de muestreo y con ello se analizó el efecto de dichas variables en la ocurrencia de parásitos (ácaros, un hongo y un virus) en anfibios de tres arroyos dentro de la Reserva de la Biosfera Chamela. Se reportó por vez primera al ácaro *Hannemania hylae* y al hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* parasitando a *Tlalocohyla smithii*. Se encontró que las variables del ambiente más relacionadas a la presencia de los ácaros fueron diferentes a las del hongo. No detectamos individuos positivos a la presencia de *Ranavirus*. Sin embargo, esta investigación es la primera en analizar la presencia-ausencia de *Ranavirus* en anfibios de vida libre en México. En el tercer capítulo se realizó un meta-análisis de parásitos registrados en anfibios de vida libre y mediante análisis ecológicos y estadísticos se evidenció que existen asociaciones muy específicas entre parásitos y hospederos y entre las especies de parásitos. Este estudio demostró que la antropización del hábitat influyó en la diversidad, presencia y en las asociaciones entre las especies de parásitos y hospederos. En conjunto, esta tesis analiza los factores intrínsecos y extrínsecos asociados a las infecciones de los distintos parásitos en los anfibios, lo cual es de vital importancia ya que nos permite conocer y entender mejor los procesos involucrados en las infecciones parasitarias en anfibios mexicanos, lo cual puede repercutir en su salud y conservación.

Palabras clave: macroparásitos, microparásitos, enfermedades emergentes, ácaros, medioambiente, co-ocurrencia.

ABSTRACT

In recent decades, amphibian populations have been dramatically reduced worldwide due to various causes, among them are the destruction and disturbance of their habitat and the emerging diseases caused by micro and macroparasites (fungi, viruses, helminths, etc). However, the ecological processes that participate in the infections of the different parasites in amphibians are poorly understood. To deepen this knowledge, the intrinsic and extrinsic factors associated with the parasite-host relationships were studied. Among the intrinsic ones, the morphological characteristics of the host were considered, because several authors mention that a large size and weight make it easier for the host to be infected. The biotic and abiotic factors present in the habitat were considered as extrinsic. Various investigations support that variables such as temperature or humidity influence on infections. Other authors mention that the loss of habitat or the change of land use is what impacts on parasite and host relationships and their infections. The aim of this work was to determine the different intrinsic and extrinsic factors involved in the parasite-host associations in some Mexican amphibians. This research is presented in three chapters, the first one, we analyzed the diversity of mites from three amphibian species collected in the Los Tuxtlas Biosphere Reserve, we studied the association between the presence of parasites with the morphological characteristics of the hosts. The results showed that there was no significant relationship between the infestation levels of the parasites and the morphological variables of the hosts. In the second chapter, different biotic and abiotic factors were recorded in the sampling sites to analyze the effect of these variables on the occurrence of parasites (mites, a fungus and a virus) in amphibians of three streams within the Chamela Biosphere Reserve. As a result, we reported for the first time the record that the *Hannemania hylae* mite and the fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* were parasitizing *Tlalocohyla smithii*. It was found that the environmental factors most related to the presence of mites were different from those of the fungus, and for the presence of Ranaviruses we did not detect positive individual' s records. However, this research is the first to analyze the presence-absence of Ranaviruses in free-living amphibians in Mexico. In chapter three, a meta-analysis of parasites registered in free-living amphibians was carried out and through ecological and statistical analyzes, results show that there is evidence of a specific association between parasites and hosts and between parasite species. This study showed that anthropization influences the diversity, presence and associations between parasite and host species. As a whole, this thesis analyzes both the intrinsic and extrinsic factors associated with the infection of different parasites in amphibians, information that is of vital importance since it will allow us to have a better knowledge and understanding of the processes involved in infections by parasites in Mexican amphibians, which may have a strong impact on their health and conservation.

Keywords: macroparasites, microparasites, emergent diseases, mites, environment, co-occurrence.

INTRODUCCIÓN

La importancia de los parásitos radica en que tienen un gran impacto tanto a nivel individual como en el ecosistema. A nivel individual los parásitos causan un efecto en el comportamiento de su hospedero, en su fisiología, en los requerimientos energéticos, en el estatus nutricional y en la habilidad para desarrollar sus funciones biológicas. A nivel poblacional los parásitos influyen en las historias de vida de sus hospederos al aumentar su mortalidad, fecundidad y natalidad entre otros. A nivel de comunidad los parásitos influyen en las dinámicas poblacionales entre los depredadores y sus presas causando un efecto a nivel estructural. En los ecosistemas, los parásitos influyen en los ciclos biogeoquímicos, en la producción de biomasa a través del flujo de materia y energía, intervienen en las dinámicas de estabilidad, disturbio y sucesión (Eviner y Likens, 2010; Johnson et al., 2010; Kuris et al., 2008; Preston et al., 2016).

Muchas de las investigaciones que existen sobre parásitos se han enfocado en analizar diferentes aspectos involucrados en la relación parásito-hospedero. El presente estudio consideró las características propias del parásito u hospedero como los factores intrínsecos asociados a dicha relación. Ejemplos de lo anterior, se presentan en estudios en los que mencionan que las características morfológicas del hospedero como un gran tamaño y peso promueven que un hospedero sea más susceptible a la infección por los parásitos (Bensch et al., 2000; Brooks y Hoberg, 2007; Little et al., 2006).

Dentro de los factores extrínsecos se consideraron las variables bióticas y abióticas presentes en el hábitat, algunos autores sustentan que los parásitos están condicionados por las variables bióticas y abióticas donde se desarrollan, especialmente por algunas variables muy específicas, como la temperatura, humedad y la diversidad de hospederos (Hechinger y Lafferty, 2005; Hein et al., 2014; Wenger et al., 2011).

Otras investigaciones mencionan que un conjunto de condiciones bióticas y abióticas como la pérdida o cambio de uso de suelo es lo que influye en la presencia y en la transmisión de las especies de parásitos, así como en las interacciones que se presenten entre hospedero-parásito (Bradley y Altizer, 2007; Koprivnikar y Redfern, 2012; Lafferty y Holt 2003; Rohr et al., 2011).

Marcogliese et al. (2009) mencionan que en sitios antropizados la riqueza de parásitos disminuyó en comparación con sitios conservados. Por su parte Lagrue et al. (2018) encontraron que la abundancia de parásitos fue mayor en ambientes antropizados que en no antropizados. Koprivnikar y Redfern (2012) también mencionan que el paisaje puede tener un fuerte efecto de

forma directa sobre los hospederos anfibios y de forma indirecta al influir en los hospederos intermediarios o en la transmisión de sus parásitos.

A pesar de lo que actualmente se conoce, aún existen muchas incógnitas acerca de las relaciones parásito-hospedero. Por lo anterior y con la intención de generar mayor conocimiento en este contexto, el objetivo general en esta tesis es determinar factores intrínsecos y extrínsecos implicados en las asociaciones parásito-hospedero en anfibios mexicanos. Para la realización del objetivo general se plantearon las siguientes hipótesis que se abordaron como capítulos 1. Las características morfológicas del hospedero (gran tamaño y peso) lo hacen más susceptible a la infección por parásitos 2. Los factores bióticos y abióticos del hábitat están asociados a la presencia y a la relación que existe entre micro y macro parásitos en anfibios 3. La relación entre parásito-hospedero y parásito-parásito en las comunidades de parásitos en anfibios mexicanos es aleatoria y finalmente la antropización del ambiente influye en la presencia y asociación entre las especies de parásitos en anfibios mexicanos.

El presente estudio se enfocó en un grupo de vertebrados “anfibios anuros” . Principalmente porque este grupo ocupa el segundo lugar a nivel mundial en especies en peligro de extinción, cabe mencionar que una de las razones por las que este grupo está en riesgo es por enfermedades infecciosas emergentes causadas por microparásitos como el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* y virus pertenecientes al género *Ranavirus*. En el caso de los macroparásitos como helmintos y ácaros se han registrado estrechamente asociados a la biología de su hospedero sin causar daño. Sin embargo, también existen especies que se han registrado causando patologías en su hospedero de las cuales poco se conoce (IUCN, 2017; Koprivnikar et al., 2012; Lips et al., 2005; Ochoa-Ochoa et al., 2009; Schloegel et al., 2009; Young et al., 2001). Otra de las razones por las que este grupo se encuentra en riesgo es por la pérdida y cambio de uso de suelo de su hábitat (Parra-Olea et al., 2005). La importancia de los anfibios mexicanos también se debe a la riqueza y endemismos que tenemos a nivel nacional, si sus poblaciones siguieran disminuyendo sería imposible reemplazar a esas especies y a sus importantes funciones en el ecosistema ya que tienen la capacidad de transportar nutrientes de ecosistemas acuáticos a terrestres, son controladores de plagas y son considerados indicadores del ecosistema; al ser altamente sensibles cuando se presentan cambios en las condiciones medioambientales.

Para responder a las hipótesis de la presente investigación, se realizaron análisis ecológicos y taxonómicos de ácaros en anfibios, registros de campo de variables bióticas y abióticas presentes en todos los sitios de captura de los individuos analizados parasitológicamente, se elaboró un meta-análisis de parásitos infestando a anfibios en diferentes estados y se realizaron análisis estadísticos. Los sitios de estudio fueron: La Reserva de la Biosfera Chamela Cuixmala Jalisco, el centro del pueblo Emiliano Zapata, Jalisco, La Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas y el centro del

pueblo Los Tuxtlas, Veracruz. Dichas zonas son representativas de la gran diversidad y endemismo de especies de anfibios que existen en el país.

Con la finalidad de analizar las características morfológicas del hospedero con sus niveles de infestación y para contribuir al conocimiento de las especies de ácaros que se encuentran infectando a los anfibios en esa región, en el primer capítulo se analizó la diversidad de ácaros endoparásitos provenientes de tres especies de anfibios recolectados en la Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas Veracruz y se realizaron análisis estadísticos para conocer si existía una relación entre las características morfológicas del hospedero con sus niveles de infestación.

Con la intención de determinar las variables bióticas y abióticas asociadas a la presencia de cada parásito encontrado (ácaros, el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* y el virus *Ranavirus*) y a la relación que existe entre ellos. En el segundo capítulo se registraron las variables bióticas y abióticas en los sitios de muestreo y con ello se analizó el efecto de las variables bióticas y abióticas en la ocurrencia de parásitos en anfibios de tres arroyos dentro de la Estación de Biología Chamela Cuixmala Jalisco, también se realizó un análisis estadístico para conocer si existía una relación entre los macro y micro parásitos presentes.

Para conocer las asociaciones que se presentan entre parásito y hospedero y entre las especies de parásitos y para conocer el efecto de la antropización del ambiente en la co-ocurrencia y asociación entre las especies de parásitos, en el tercer capítulo se realizó un meta-análisis de parásitos registrados en anfibios de vida libre (se incluyeron registros de los capítulos 1 y 2) con un total de 1450 registros mediante el estudio de la ecología de comunidades, se llevaron a cabo análisis a diferentes escalas tanto a nivel regional como a nivel local y se realizaron análisis acerca de la presencia y asociación entre las especies de parásitos en sitios conservados y antropizados.

En conjunto, esta tesis analiza los factores intrínsecos y extrínsecos asociados a las infecciones de los distintos parásitos en los anfibios, lo cual es de vital importancia ya que nos ayuda a conocer y entender mejor los procesos involucrados en las infecciones parasitarias en anfibios mexicanos lo cual puede repercutir en su salud y conservación.

El presente trabajo aporta información relevante respecto a:

- La diversidad de microparásitos y macroparásitos que infestan a los anfibios mexicanos.
- Demostró que las características morfológicas del hospedero analizadas (tamaño y peso) no estuvieron asociadas a los niveles de infestación por parásitos (ácaros del género *Hannemania*)
- Contribuyó con información taxonómica de ácaros endoparásitos del género *Hannemania* que infestan a los anfibios.

- Reportó por vez primera al ácaro *Hannemania hylae* y al hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* parasitando a *Tlalocohyla smithii*.
- Demostró que las variables del ambiente más relacionadas a la presencia de los ácaros fueron la temperatura máxima del ambiente y la cobertura vegetal y se comprobó que las variables del ambiente inversamente asociadas a la presencia del hongo fueron la temperatura máxima del ambiente y la cantidad de agua en el arroyo.
- Esta investigación es la primera en analizar la presencia-ausencia de *Ranavirus* en anfibios de vida libre en México.
- El presente estudio evidenció que existen asociaciones muy específicas entre parásitos y hospederos y entre las especies de parásitos en anfibios mexicanos.
- Demostró que la antropización del hábitat influye en la diversidad, presencia y en las asociaciones que se presentan entre las especies de parásitos y hospederos en anfibios mexicanos.

BIBLIOGRAFÍA

Bensch, S., Stjernman, M., Hasselquist, D., Örjan, Ö., Hansson, B., Westerdahl, H., y Pinheiro, R. T. (2000). Host specificity in avian blood parasites: a study of *Plasmodium* and *Haemoproteus* mitochondrial DNA amplified from birds. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 267(1452), 1583-1589.

Bradley, C. A., y Altizer, S. (2007). Urbanization and the ecology of wildlife diseases. *Trends in ecology & evolution*, 22(2), 95-102.

Brooks, D. R., y Hoberg, E. P. (2007). How will global climate change affect parasite–host assemblages? *Trends in parasitology*, 23(12), 571-574.

Eviner, V. T., y Likens, G. E. (2010). Effects of pathogens on terrestrial ecosystem function. *Infectious Disease Ecology: Effects of Ecosystems on Disease and of Disease on Ecosystems*, 260.

Hechinger, R. F., y Lafferty, K. D. (2005). Host diversity begets parasite diversity: bird final hosts and trematodes in snail intermediate hosts. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 272(1567), 1059-1066.

Hein, C. L., Öhlund, G., y Englund, G. (2014). Fish introductions reveal the temperature dependence of species interactions. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 281(1775), 20132641.

IUCN. (2017). The IUCN Red List of Threatened Species. IUCN 2017. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2017-2011. <. Downloaded on 2012 May 2017.

Johnson, P. T., Dobson, A., Lafferty, K. D., Marcogliese, D. J., Memmott, J., Orlofske, S. A., Thielctges, D. W. (2010). When parasites become prey: ecological and epidemiological significance of eating parasites. *Trends in ecology & evolution*, 25(6), 362-371.

Koprivnikar, J., Marcogliese, D. J., Rohr, J. R., Orlofske, S. A., Raffel, T. R., y Johnson, P. T. (2012). Macroparasite infections of amphibians: what can they tell us? *EcoHealth*, 9(3), 342-360.

Koprivnikar, J., y Redfern, J. C. (2012). Agricultural effects on amphibian parasitism: importance of general habitat perturbations and parasite life cycles. *Journal of Wildlife Diseases*, 48(4), 925-936.

Kuris, A. M., Hechinger, R. F., Shaw, J. C., Whitney, K. L., Aguirre-Macedo, L., Boch, C. A., Huspeni, T. C. (2008). Ecosystem energetic implications of parasite and free-living biomass in three estuaries. *Nature*, 454(7203), 515-518.

Lafferty, K. D., y Holt, R. D. (2003). How should environmental stress affect the population dynamics of disease? *Ecology Letters*, 6(7), 654-664.

- Lagrange, C., Besson, A., y Lecerf, A. (2018). Small alteration–big impacts: effects of small-scale riparian forest management on host–parasite dynamics in streams. *Journal of helminthology*, 92(1), 64–73.
- Lips, K. R., Burrowes, P. A., Mendelson, J. R., y Parra-Olea, G. (2005). Amphibian declines in Latin America: widespread population declines, extinctions, and impacts. *Biotropica*, 37(2), 163–165.
- Little, T. J., Watt, K., Ebert, D., y Koella, J. (2006). Parasite-host specificity: experimental studies on the basis of parasite adaptation. *Evolution*, 60(1), 31–38.
- Marcogliese, D. J., King, K. C., Salo, H. M., Fournier, M., Brousseau, P., Spear, P., Boily, M. (2009). Combined effects of agricultural activity and parasites on biomarkers in the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Aquatic Toxicology*, 91(2), 126–134.
- Ochoa-Ochoa, L., Urbina-Cardona, J. N., Vázquez, L.-B., Flores-Villela, O., y Bezaury-Creel, J. (2009). The effects of governmental protected areas and social initiatives for land protection on the conservation of Mexican amphibians. *PLoS One*, 4(9), e6878.
- Parra-Olea, G., Martínez-Meyer, E., y De León, G. P. P. (2005). Forecasting climate change effects on salamander distribution in the highlands of central Mexico. *Biotropica*, 37(2), 202–208.
- Preston, D. L., Mischler, J. A., Townsend, A. R., y Johnson, P. T. (2016). Disease ecology meets ecosystem science. *Ecosystems*, 19(4), 737–748.
- Rohr, J. R., Dobson, A. P., Johnson, P. T., Kilpatrick, A. M., Paull, S. H., Raffel, T. R., Thomas, M. B. (2011). Frontiers in climate change–disease research. *Trends in ecology & evolution*, 26(6), 270–277.
- Schloegel, L. M., Picco, A. M., Kilpatrick, A. M., Davies, A. J., Hyatt, A. D., y Daszak, P. (2009). Magnitude of the US trade in amphibians and presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* and ranavirus infection in imported North American bullfrogs (*Rana catesbeiana*). *Biological Conservation*, 142(7), 1420–1426.
- Wenger, S. J., Isaak, D. J., Luce, C. H., Neville, H. M., Fausch, K. D., Dunham, J. B., Rieman, B. E. (2011). Flow regime, temperature, and biotic interactions drive differential declines of trout species under climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(34), 14175–14180.
- Young, B. E., Lips, K. R., Reaser, J. K., Ibanez, R., Salas, A. W., Cedeño, J. R., Meyer, J. R. (2001). Population declines and priorities for amphibian conservation in Latin America. *Conservation Biology*, 15(5), 1213–1223.

REVISIÓN DE LITERATURA

1. Causas asociadas a las declinaciones en anfibios a nivel mundial

Los anfibios son uno de los grupos de organismos más antiguos, evidencia molecular sugiere que aparecieron en la tierra hace 330 millones de años y sus orígenes geográficos potenciales son África e India para ranas y sapos y el este de Asia para salamandras y cecilias (Zhang Zhou et al., 2005). Los anfibios están divididos en tres órdenes Anura, Caudata y Gymnophiona. Son organismos que tienen características muy particulares entre las que destacan: transportar nutrientes de ecosistemas acuáticos a terrestres, ser controladores de plagas y formar parte de las cadenas tróficas de muchas especies por consumir y ser consumidos (Frost, 2018, Blaustein y Wake, 1995, Tattersall y Ultsch, 2008, Whittaker et al., 2013).

Por sus características morfológicas y fisiológicas han sido considerados indicadores del ecosistema. Los anfibios tienen la particularidad de presentar una gran variedad de tipos de reproducción (Frost, 2018), son organismos ectotermos, lo que hace que su metabolismo dependa de la temperatura del medio ambiente, son organismos que tienen una piel permeable por medio de la cual llevan a cabo su intercambio gaseoso. Debido a lo anterior, la humedad del medio ambiente es importante para ellos y por ello es por lo que se resguardan de la radiación del sol por períodos prolongados. Atribuido a la permeabilidad de su piel, tóxicos que tengan contacto con ellos ya sea en el agua, en el sustrato o cambios en la calidad del agua, así como cambios en las condiciones ambientales pueden llegar a causarles mortalidad (Blaustein y Wake, 1995, Tattersall y Ultsch, 2008).

A partir de la década de 1980 algunos investigadores empezaron a reportar declinaciones de anfibios en diferentes países y fue por ello que la comunidad científica empezó a prestar especial atención a las poblaciones de anfibios de todo el mundo y en el año 1989 se realizó el Primer Congreso Mundial de Herpetología, en el que diversos investigadores intercambiaron informes acerca de la disminución de las poblaciones de anfibios especialmente en el Neotrópico (Pounds et al., 1997, Lips, 1998, Lips, 1999), en Estados Unidos (Stebbins y Cohen, 1995) y en Australia (Richards et al., 1994, Laurance et al., 1996, Collins et al., 2003). En 1990 los científicos identificaron tres indicadores de la extinción masiva de anfibios en el mundo: primero porque cada vez había más reportes acerca de sus declinaciones, segundo porque esas declinaciones parecían estar ocurriendo en diferentes sitios geográficos al mismo tiempo y tercero porque los esfuerzos para conservar a las poblaciones en áreas protegidas no estaban resultando puesto que en esos sitios también se estaban reportando declinaciones (Collins et al., 2003). Con la intención de encontrar

las causas asociadas a dichas declinaciones, investigadores de todo el mundo empezaron a realizar un mayor número de estudios acerca de ello.



Figura 1. Causas asociadas al declive de las poblaciones de anfibios a nivel mundial

Algunos autores mencionan que las causas asociadas al declive de los anfibios son más de una y que actúan de forma sinérgica, un ejemplo de ello son las condiciones ambientales como la exposición a la radiación UV-B y a un bajo pH (Long et al., 1995). Dichos factores por separado no causaron efecto, sin embargo, en conjunto aumentaron la probabilidad de mortalidad embrionaria en *Lithobates pipiens* (Alford y Richards, 1999).

Otra de las principales causas es la introducción de especies exóticas, un ejemplo de ello es el Axolote mexicano (*Ambystoma mexicanum*), una especie de salamandra micro endémica del lago de Xochimilco en México. A partir de los años 1900 fueron introducidas dos especies exóticas de pez, una de ellas es una carpa (*Cyprinus carpio*) y una tilapia (*Oreochromis niloticus*). Las dos especies introducidas llegaron a competir con el Axolote mexicano por el alimento y como consecuencia de ello y de otras perturbaciones en su hábitat se redujeron sus poblaciones hasta el punto de encontrarse en la categoría de críticamente amenazada (Zambrano et al., 2010, IUCN, 2016). Otro ejemplo de ello se presentó con la *Rana muscosa*, al competir con un pez exótico, sus poblaciones empezaron a disminuir (Knapp et al., 2001, Carey et al., 2003, Collins et al., 2003). Las especies introducidas a otros hábitats puedan transmitir patógenos a especies nativas. Un ejemplo de lo anterior ocurre con la especie *Xenopus laevis* la cual es altamente

distribuida en todo el mundo por el uso que tiene en la investigación y por su venta al público como mascota. Actualmente se conoce que esta especie puede llegar a ser resistente a la Chytridiomycosis teniendo la posibilidad de transportar al patógeno a muchos países (Whittaker et al., 2013).

El aumento en el uso de pesticidas u otros compuestos químicos también se han considerado otras causas de las declinaciones en las poblaciones de anfibios. Hayes et al., (2010) mencionan que los herbicidas, insecticidas y fertilizantes usados para la agricultura, causan un fuerte impacto en los anfibios especialmente en su estadio acuático. Otras investigaciones mencionan que los tóxicos en el ambiente pueden llegar a disminuir la reproducción y la tasa de crecimiento; y a aumentar la susceptibilidad a enfermedades por inmunosupresión (Carey y Bryant, 1995, Alford y Richards, 1999).

Otra causa atribuida a las declinaciones en anfibios es el comercio ilegal de especies, lo que ha provocado que muchas especies sean extraídas de su hábitat natural (Schloegel et al., 2009, Gratwicke et al., 2010).

Otra causa es la fragmentación, pérdida de hábitat y el cambio de uso de suelo. Gardne (2001), menciona que las causas de la reducción en la biodiversidad de la tierra se deben a los impactos en el medio ambiente atribuido a las actividades antropogénicas. En Ontario, Canadá la deforestación y el cambio de uso de suelo en la década de 1800, terminó con la mayor parte del hábitat de anfibios de la región y tuvo como consecuencia una disminución de la diversidad y abundancia de especies de anfibios (Hecnar, 1997; Hecnar y M'Closkey, 1996). Collins y Stofer (2003) mencionan que el cambio en el uso de la tierra puede causar la extinción local y eventualmente regional de las poblaciones de anfibios atribuido a la pérdida de hábitat y a la incapacidad para llegar a sus sitios de reproducción.

Otra causa son las enfermedades emergentes. El principal patógeno responsable de una de las declinaciones más grandes en la historia es el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* el cual se conoce que ha causado extinciones masivas en al menos 200 especies de anfibios en sitios perturbados y no perturbados en todo el mundo (Whittaker et al., 2013). Investigadores sugieren que *Xenopus laevis* puede llegar a ser portador de este hongo y que en sitios a donde sea introducido puede llegar a dispersar el hongo. Otra enfermedad emergente ha sido causada por un virus perteneciente a la familia Iridoviridae, el cual también ha causado dramáticas declinaciones en anfibios de todo el mundo afectando a poblaciones tanto en vida libre como en cautiverio (Daszak et al., 1999).

Otro agente que también ha contribuido a las declinaciones de anfibios es una bacteria gram negativa llamada *Aeromonas hydrophila* la cual causó la enfermedad llamada "patas rojas" la cual afectó en 1981 a las larvas de la especie *Rana sylvatica* (*Lithobates sylvaticus*) que habitaban en California y Rhode Island (Nyman, 1986). Esa misma bacteria causó la extinción local de la especie *Rana muscosa* en California (Bradford, 1991, Alford y Richards, 1999).

Otros patógenos que han afectado a las poblaciones de anfibios son cuatro géneros de tremátodos a los cuales se les han atribuido deformidades en las extremidades de anfibios: uno llamado *Saprolegnia* sp. que ha reportado infectando a la rana arborícola del Pacífico (*Pseudacris regilla*) (Alford y Richards, 1999) y otros llamados *Ribeiroia*, *Echinostoma* y *Echinoparyphium* los cuales han sido reportados en muchas especies de anfibios (Johnson y Sutherland, 2003).

Por lo anterior, es importante estudiar y analizar los factores que están causando las declinaciones de las poblaciones de anfibios de una forma integral con la finalidad de comprender mejor que es lo que está ocurriendo y como están respondiendo las poblaciones de anfibios ante sus posibles amenazas.

2. Estatus de conservación de anfibios a nivel mundial y en México

Stuart et al., 2004, 2008 reporta que una tercera parte de todas las especies que existen están amenazadas con riesgo de extinción, que al menos 42% de las especies que se conocen han experimentado pérdida en sus poblaciones y se cree que aproximadamente 168 especies, ya se han extinto (Frost, 2018). Por su parte, Whittaker et al., (2013) menciona que los anfibios son el grupo de vertebrados que más declinaciones ha experimentado en la historia.

A nivel mundial existen más de 7000 especies de anfibios divididos en tres clados Anura, Caudata y Gymnophiona (Frost, 2018). La diversidad de anfibios se distribuye principalmente en los trópicos especialmente en Centro y Sudamérica. Otras zonas hotspots de diversidad de anfibios se encuentran en África subsahariana, Madagascar, Sri Lanka, Sudeste Asiático, Nueva Guinea y Australia. Stuart (2008) menciona que las áreas donde existe una gran diversidad de anfibios en las que se ha presentado una mayor amenaza para sus poblaciones es en Centroamérica, el Caribe y los trópicos del este de Australia y el Oeste de América del Norte. Actualmente se sabe que las islas del Caribe y el pacífico poseen los más altos porcentajes de endemismos (Whittaker et al., 2013).

Stuart et al., (2004) analiza a las familias de anfibios que más declinaciones en sus poblaciones han presentado y encontró que las familias de anfibios que tienen especies que disminuyen significativamente más rápido que el promedio de otras son Rheobatrachidae (ranas incubadoras gástricas), Leptodactylidae (ranas neotropicales típicas), Bufonidae (sapos verdaderos) y Ambystomatidae (salamandras con forma de topo). Por su parte las familias de anfibios que también presentaron altos rangos de disminución en sus poblaciones son Bufonidae, Leptodactylidae, Hylidae (ranas arbóreas) y Ranidae (ranas verdaderas).

Las salamandras y cecilias poseen rangos de distribución más reducidos que los anuros, se conocen aproximadamente más de 600 especies de salamandras, 200 de cecilias y 7187 de anuros a nivel mundial (Parra-Olea et al., 2014; Frost, 2018).

Brasil posee la mayor diversidad de especies de anfibios con 798 especies, seguido por Colombia con 714, Ecuador con 467, Perú con 461 y México con 364 (IUCN, 2017).

En el caso particular de México posee el quinto lugar en diversidad de especies de anfibios, ocupa el segundo lugar en especies de anfibios amenazados, el séptimo como el país con mayor número de anfibios amenazados o extintos y ocupa el tercer lugar a nivel mundial como el país con mayor número de endemismos (IUCN, 2017).

Basados en datos de IUCN-GAA 2010 en México al menos un 58% de las especies de anfibios mexicanas se encuentran amenazadas, dicha lista incluye 16 familias, 52 géneros, 364 especies de anfibios de las cuales 227 pertenecen al orden Anura, 135 al orden Caudata y 2 al orden Gymnophiona.

En México el 5.77% (21 especies) de las especies son consideradas próximas a ser amenazadas (Near Threatened) (IUCN, 2017).

Frías-Alvarez et al., (2010) menciona que un 69.5% de las especies (177 especies) se encuentran amenazadas. De estas, 27 de las especies se clasifican como vulnerables (VU), 67 como en peligro (EN) y 77 como en peligro crítico (CR).



Figura 2. Porcentaje de especies amenazadas por familia basado en Frías-Alvarez et al., 2010.

Las familias con las especies más amenazadas son (porcentaje de especies clasificadas como amenazadas) por la UICN-GAA: Plethodontidae (73.04%), Ambystomatidae (64.71%), Eleutherodactylidae (60.87%), Craugastoridae (59.46%), Hylidae (58.95%), Ranidae (42,30%), Bufonidae (31,25%) y Microhylidae (20%) (Frías-Alvarez et al., 2010).

Según la UICN (2010), las tendencias poblacionales de los anfibios mexicanos son preocupantes. Un alto porcentaje de especies (64.29%, 234 especies) están sufriendo de algún tipo de disminución. Por el contrario, solo 4 (1,10%) especies de anfibios mexicanos son demográficamente aumentando, mientras que 72 (19.78%) son aparentemente estables y 54 (14.84%) carecen de suficiente información sobre las tendencias de su población.

Las más comunes amenazas para los anfibios mexicanos son: el cambio de uso de suelo. Un total de 322 (86.56%) especies de las 372 reconocidas en México por la UICN, (2010) sufre las consecuencias de las actividades que modifican su hábitat natural, las enfermedades infecciosas emergentes representan la segunda amenaza más visible. Se han sugerido un total de 87 especies (23.39%) como víctimas reales o al menos potenciales de patógenos, la contaminación también está afectando a un alto número de especies: 76 anfibios mexicanos (20.43%) están amenazados por tóxicos o productos químicos, la introducción de especies exóticas actualmente daña a 41 especies (11.02%), mientras que los cambios globales y la sobreexplotación afectan cada uno a 36 (9,68%) especies. Sin embargo, a pesar de lo que actualmente se conoce aún existe mucha falta de información.

3. Ecología y epidemiología de macro y micro parásitos en anfibios mexicanos

Investigaciones acerca de los macroparásitos (helminetos, ácaros) y microparásitos (hongos, bacterias y virus) en anfibios han ido en aumento, una de las causas de ello ha sido por la intención de explicar las declinaciones de anfibios que se identificaron en la década de 1980 (Collins et al., 2003, Young et al., 2001).

Koprivnikar et al., 2012 han diferenciado en ecología a los macroparásitos de los microparásitos por diferentes características. En el caso de los macroparásitos son más grandes, tienen ciclos de vida más complejos (requieren uno o más hospederos intermediarios), sus niveles de infestación son más altos, generalmente pueden encontrarse en sus hospederos con cargas parasitarias de hasta cientos por individuo y en el caso de los microparásitos es posible encontrar hasta miles en un hospedero. Otros autores consideran a los macroparásitos como organismos extracelulares a diferencia de los microparásitos que habitan frecuentemente intracelularmente, como en el caso de los virus (Jolles et al., 2008, Nunn et al., 2014).

En México se han realizado muchas investigaciones acerca de los macroparásitos en helmintos existen principalmente listados, temas asociados a ecología y taxonomía. Se han reportado parasitados por nemátodos, tremátodos, cestodos, acantocéfalos, monogéneos e hirudíneos (Paredes-Leon et al., 2008, Goldberg et al., 2002, Cabrera-Guzmán et al., 2007, Pérez-Ponce de León et al., 2002). En el caso de los ácaros ectoparásitos existen estudios en los que reportan anfibios parasitados por garrapatas del género *Amblyomma* (Paredes-Leon et al., 2008, Guzman-Cornejo et al., 2011); también existen investigaciones acerca de ácaros endoparásitos de la familia Leewenhoekidae del género *Hannemania* (Espino del Castillo et al., 2011, Jacinto-Maldonado et al., 2016).

Los estudios acerca de los micro parásitos en anfibios se han enfocado principalmente al hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Mendoza-Almeralla et al., 2015, Hernández, 2017, Cheng et al., 2011). Investigaciones acerca de las bacterias en anfibios mexicanos son escasas (Zambrano et al., 2004, Antwis et al., 2015) y acerca de virus también existen muy pocas, como el Virus del Oeste del Nilo (Farfan-Ale et al., 2006, Klenk y Komar, 2003) y *Ambystoma Tigrinum Virus* (ATV) (Cotter et al., 2008).

Paredes-León et al., (2008) menciona que únicamente se han estudiado los ácaros y helmintos de un 24.6% de todas las especies de anfibios y reptiles que se conocen en el país, a pesar de ser uno de los países a nivel mundial con mayor biodiversidad en anfibios.

Estudios acerca del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* en el mundo se han realizado en muchas investigaciones. Sin embargo, aún no se conoce de qué forma está afectando a las poblaciones de anfibios mexicanas, así como el impacto que han sufrido las poblaciones de anfibios mexicanas en los estados con mayor biodiversidad. Por su parte, investigaciones sobre bacterias y virus son escasas. En el caso de los virus que afectan a anfibios, en México existen muy pocos, se necesita realizar mayor investigación ya que virus pertenecientes a la familia Iridoviridae son considerados a nivel mundial causantes de una enfermedad emergente que ha causado mortalidades masivas en poblaciones de anfibios de todos los continentes (Lesbarréres et al., 2012, Duffus et al., 2015) y en México no existen artículos publicados en anfibios anuros.

Por todo lo anterior y debido a la importancia que tiene el estudio de los parásitos, se recomienda llevar a cabo mayor investigación en parásitos de anfibios mexicanos, incluyendo un enfoque integral que contemple un mayor número de factores bióticos y abióticos del hábitat asociados a su presencia y co-ocurrencia, analizando como están respondiendo las especies de anfibios a las interacciones que se presentan entre parásito y hospedero tanto en cautiverio como en vida libre.

BIBLIOGRAFÍA

- ALFORD, R. A. & RICHARDS, S. J. 1999. Global amphibian declines: a problem in applied ecology. *Annual review of Ecology and Systematics*, 30, 133-165.
- AMPHIBIAWEB 2018. <https://amphibiaweb.org>> University of California, Berkeley, CA, USA. Accessed 24 Apr 2018.
- ANTWIS, R. E., PREZIOSI, R. F., HARRISON, X. A. & GARNER, T. W. 2015. Amphibian symbiotic bacteria do not show a universal ability to inhibit growth of the global panzootic lineage of *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Applied and environmental microbiology*, 81, 3706-3711.
- BLAUSTEIN, A. R. & WAKE, D. B. 1995. The puzzle of declining amphibian populations. *Scientific American*, 272, 52-57.
- BRADFORD, D. F. 1991. Mass mortality and extinction in a high-elevation population of *Rana muscosa*. *Journal of Herpetology*, 174-177.
- CABRERA-GUZMÁN, E., LEÓN-RÈGAGNON, V. & GARCÍA-PRIETO, L. 2007. Helminth parasites of the leopard frog *Rana cf. forreri* (Amphibia: *Ranidae*) in Acapulco, Guerrero, Mexico. *Comparative Parasitology*, 74, 96-107.
- CAREY, C., BRADFORD, D. F., BRUNNER, J. L., COLLINS, J. P., DAVIDSON, E. W., LONGCORE, J. E., OUELLET, M., PESSIER, A. P. & SCHOCK, D. M. 2003. Biotic factors in amphibian population declines. Amphibian decline: an integrated analysis of multiple stressor effects. Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Pensacola, Florida, 153-208.
- CAREY, C. & BRYANT, C. J. 1995. Possible interrelations among environmental toxicants, amphibian development, and decline of amphibian populations. *Environmental Health Perspectives*, 103, 13.
- COLLINS, J., COHEN, N., DAVIDSON, E., LONGCORE, J. & STORFER, A. 2003. Global amphibian declines: an interdisciplinary research challenge for the 21st century. *Status and conservation of US amphibians*, 1, 43-52.
- COTTER, J. D., STORFER, A., PAGE, R. B., BEACHY, C. K. & VOSS, S. R. 2008. Transcriptional response of Mexican axolotls to *Ambystoma tigrinum virus* (ATV) infection. *BMC genomics*, 9, 493.
- CHENG, T. L., ROVITO, S. M., WAKE, D. B. & VREDENBURG, V. T. 2011. Coincident mass extirpation of neotropical amphibians with the emergence of the infectious fungal pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108, 9502-9507.

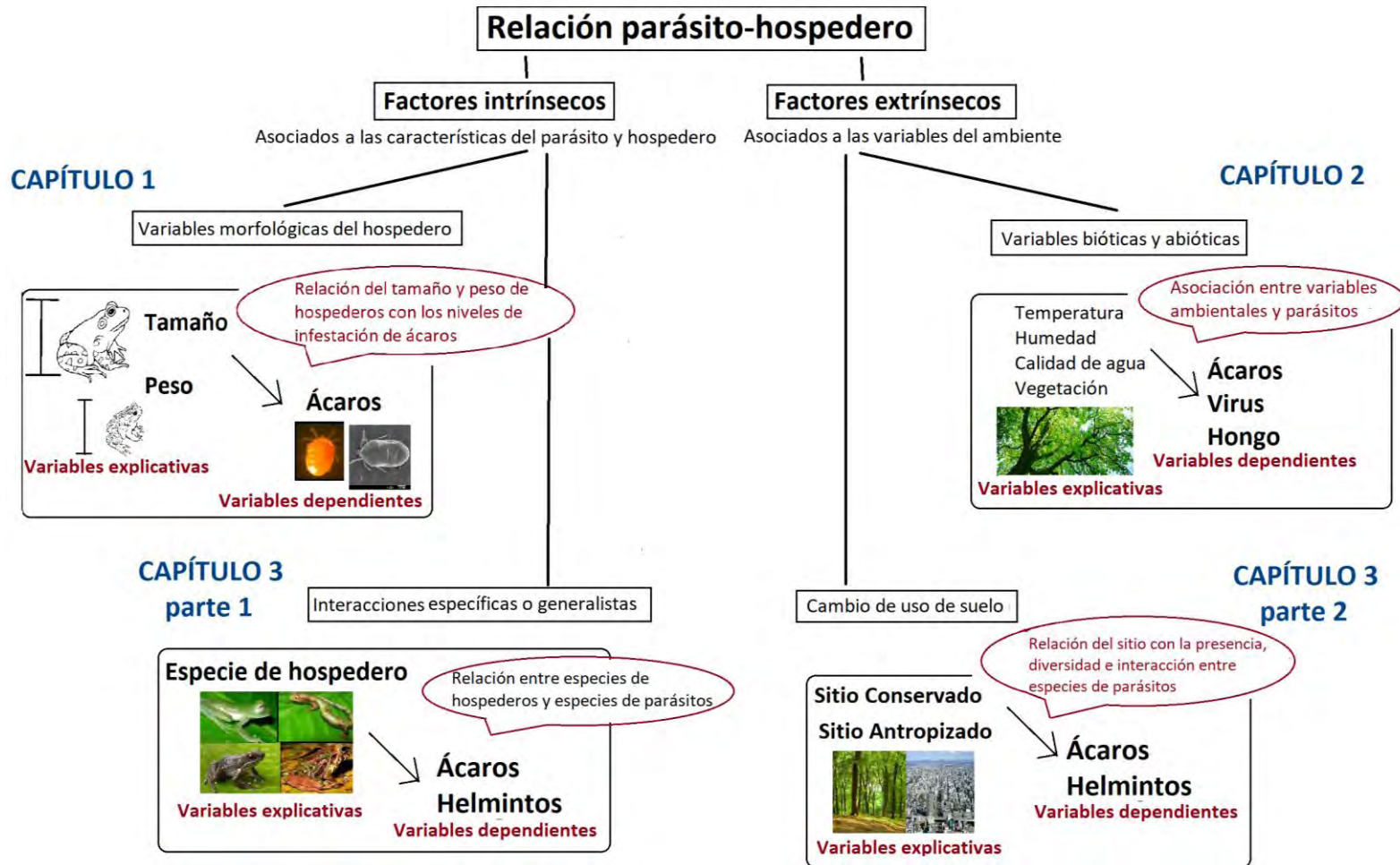
- DASZAK, P., BERGER, L., CUNNINGHAM, A. A., HYATT, A. D., GREEN, D. E. & SPEARE, R. 1999. Emerging infectious diseases and amphibian population declines. *Emerging infectious diseases*, 5, 735.
- DUFFUS, A. L., WALTZEK, T. B., STÖHR, A. C., ALLENDER, M. C., GOTESMAN, M., WHITTINGTON, R. J., HICK, P., HINES, M. K. & MARSCHANG, R. E. 2015. Distribution and host range of ranaviruses. *Ranaviruses*. Springer.
- ESPINO DEL CASTILLO, A., PAREDES-LEÓN, R. & MORALES-MALACARA, J. B. 2011. Presence of intradermal chigger mite *Hannemania hylae* (Ewing, 1925)(Acari: Leeuwenhoekiidae) in the troglophile frog *Eleutherodactylus longipes* (Anura: Brachycephalidae) at Los Riscos cave, Queretaro, México. *International Journal of Acarology*, 37, 427-440.
- FARFAN-ALE, J. A., BLITVICH, B. J., MARLENEE, N. L., LOROÑO-PINO, M. A., PUERTO-MANZANO, F., GARCIA-REJON, J. E., ROSADO-PAREDES, E. P., FLORES-FLORES, L. F., ORTEGA-SALAZAR, A. & CHAVEZ-MEDINA, J. 2006. Antibodies to West Nile virus in asymptomatic mammals, birds, and reptiles in the Yucatan Peninsula of Mexico. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 74, 908-914.
- FRÍAS-ALVAREZ, P., ZÚNIGA-VEGA, J. J. & FLORES-VILLELA, O. 2010. A general assessment of the conservation status and decline trends of Mexican amphibians. *Biodiversity and Conservation*, 19, 3699-3742.
- FROST, D. R. 2018. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0 (Date of access). Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York, USA.
- GARDNER, T. 2001. Declining amphibian populations: a global phenomenon in conservation biology. *Animal Biodiversity and Conservation*, 24, 25-44.
- GOLDBERG, S., WRENN, W. & BURSEY, C. 2002. *Bufo mazatlanensis* (Sinaloa toad), *Rana tarahumarae* (Tarahumara frog). Ectoparasites. *Herpetological Review*, 33, 301-302.
- GRATWICKE, B., EVANS, M. J., JENKINS, P. T., KUSRINI, M. D., MOORE, R. D., SEVIN, J. & WILDT, D. E. 2010. Is the international frog legs trade a potential vector for deadly amphibian pathogens? *Frontiers in Ecology and the Environment*, 8, 438-442.
- GUZMAN-CORNEJO, C., ROBBINS, R. G., GUGLIELMONE, A. A., MONTIEL-PARRA, G. & PÉREZ, T. 2011. The *Amblyomma* (Acari: Ixodida: Ixodidae) of Mexico: identification keys, distribution and hosts. *Zootaxa*, 2998, 16-38.
- HAYES, T., FALSO, P., GALLIPEAU, S. & STICE, M. 2010. The cause of global amphibian declines: a developmental endocrinologist's perspective. *Journal of Experimental Biology*, 213, 921-933.

- HECNAR, S. 1997. Amphibian pond communities in southwestern Ontario. *Amphibians in decline: Canadian studies of a global problem*, 1-15.
- HECNAR, S. J. & M'CLOSKEY, R. T. 1996. Regional dynamics and the status of amphibians. *Ecology*, 77, 2091-2097.
- HERNÁNDEZ, R. C. 2017. Evaluación de la presencia del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis*, en poblaciones de anfibios en área cero extinción (aze) en Oaxaca y Chiapas, México. *Lacandonia*, 6, 7-16.
- IUCN 2010. International Union for Conservation of Nature IUCN red list of threatened species. Version 2010.1. www.iucnredlist.org. Cited 16 Apr 2010.
- IUCN 2016. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2016. Downloaded on 10 October 2015.
- IUCN 2017. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2017-3. Downloaded on 05 December 2017..
- JACINTO-MALDONADO, M., PAREDES-LEÓN, R., SALGADO-MALDONADO, G., GARCÍA, A. & SUZÁN, G. 2016. New records of amphibians parasitized by chiggers in Los Tuxtlas Biosphere Reserve, Mexico, and taxonomic notes on *Hannemania mexicana* (Acariformes: Prostigmata: Leeuwenhoekidae). *Systematic and Applied Acarology*, 21, 13-20.
- JOHNSON, P. T. AND D. R. SUTHERLAND. 2003. "Amphibian deformities and Ribeiroia infection: an emerging helminthiasis." *Trends in Parasitology* 19(8): 332-335.
- JOLLES, A. E., EZENWA, V. O., ETIENNE, R. S., TURNER, W. C. & OLFF, H. 2008. Interactions between macroparasites and microparasites drive infection patterns in free-ranging African buffalo. *Ecology*, 89, 2239-2250.
- KLENK, K. & KOMAR, N. 2003. Poor replication of West Nile virus (New York 1999 strain) in three reptilian and one amphibian species. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 69, 260-262.
- KOPRIVNIKAR, J., MARCOGLIESE, D. J., ROHR, J. R., ORLOFSKE, S. A., RAFFEL, T. R., & JOHNSON, P. T. 2012. Macroparasite infections of amphibians: what can they tell us?. *EcoHealth*, 9(3), 342-360.
- KNAPP, R. A., CORN, P. S. & SCHINDLER, D. E. 2001. The introduction of nonnative fish into wilderness lakes: good intentions, conflicting mandates, and unintended consequences. *Ecosystems*, 4, 275-278.
- LAURANCE, W. F., MCDONALD, K. R. & SPEARE, R. 1996. Epidemic disease and the catastrophic decline of Australian rain forest frogs. *Conservation Biology*, 10, 406-413.

- LESBARRÈRES, D., BALSEIRO, A., BRUNNER, J., CHINCHAR, V., DUFFUS, A., KERBY, J., MILLER, D., ROBERT, J., SCHOCK, D. & WALTZEK, T. 2012. *Ranavirus: past, present and future*. The Royal Society.
- LIPS, K. R. 1998. Decline of a tropical montane amphibian fauna. *Conservation Biology*, 12, 106-117.
- LIPS, K. R. 1999. Mass mortality and population declines of anurans at an upland site in western Panama. *Conservation Biology*, 13, 117-125.
- LONG, SAYLOR & SOULE, A. 1995. A pH/UV-B Synergism in Amphibians. *Conservation Biology*, Vol. 9, pp. 1301-1303.
- MENDOZA-ALMERALLA, C., BURROWES, P. & PARRA-OLEA, G. 2015. La quitridiomycosis en los anfibios de México: una revisión. *Revista mexicana de biodiversidad*, 86, 238-248.
- NUNN, C. L., BREZINE, C., JOLLES, A. E. & EZENWA, V. O. 2014. Interactions between micro-and macroparasites predict microparasite species richness across primates. *The American Naturalist*, 183, 494-505.
- NYMAN, S. 1986. Mass mortality in larval *Rana sylvatica* attributable to the bacterium, *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Herpetology*, 196-201.
- PAREDES-LEON, R., GARCIA-PRIETO, L., GUZMAN-CORNEJO, C., LEON-REGAGNON, V. & PEREZ, T. M. 2008. Metazoan parasites of Mexican amphibians and reptiles. *Zootaxa*, 1-139.
- PARRA-OLEA, VILLELA & ALMERALLA 2014. Biodiversidad de anfibios en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85, 33.
- PÉREZ-PONCE DE LEÓN, G., GARCÍA-PRIETO, L. & RAZO-MENDIVIL, U. 2002. Species richness of helminth parasites in Mexican amphibians and reptiles. *Diversity and Distributions*, 8, 211-218.
- POUNDS, J. A., FOGDEN, M. P., SAVAGE, J. M. & GORMAN, G. C. 1997. Tests of null models for amphibian declines on a tropical mountain. *Conservation biology*, 11, 1307-1322.
- RICHARDS, S. J., MCDONALD, K. R. & ALFORD, R. A. 1994. Declines in populations of Australia's endemic tropical rainforest frogs. *Pacific Conservation Biology*, 1, 66-77.
- STUART, S. N. (2008). *Threatened amphibians of the world*. Lynx Edicions
- SCHLOEGEL, L. M., PICCO, A. M., KILPATRICK, A. M., DAVIES, A. J., HYATT, A. D. & DASZAK, P. 2009. Magnitude of the US trade in amphibians and presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* and *ranavirus* infection in imported North American bullfrogs (*Rana catesbeiana*). *Biological Conservation*, 142, 1420-1426.

- STEBBINS, R. & COHEN, N. 1995. Declining amphibians. A Natural History of Amphibians. Princeton University Press, Princeton, NJ, USA, 210-251.
- TATTERSALL, G. J. & ULTSCH, G. R. 2008. Physiological ecology of aquatic overwintering in ranid frogs. *Biological Reviews*, 83, 119-140.
- WHITTAKER, K., KOO, M. S., WAKE, D. B. & VREDENBURG, V. T. 2013. Global declines of amphibians.
- YOUNG, B. E., LIPS, K. R., REASER, J. K., IBANEZ, R., SALAS, A. W., CEDEÑO, J. R., COLOMA, L. A., RON, S., LA MARCA, E. & MEYER, J. R. 2001. Population declines and priorities for amphibian conservation in Latin America. *Conservation Biology*, 15, 1213-1223.
- ZAMBRANO, L., REYNOSO, V. H. & HERRERA, G. 2004. Abundancia y estructura poblacional del axolotl (*Ambystoma mexicanum*) en los sistemas dulceacuícolas de Xochimilco y Chalco. Informe final del proyecto AS004, México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), IBUNAM.
- ZAMBRANO, L., VALIENTE, E. & VANDER ZANDEN, M. J. 2010. Food web overlap among native axolotl (*Ambystoma mexicanum*) and two exotic fishes: carp (*Cyprinus carpio*) and tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Xochimilco, Mexico City. *Biological Invasions*, 12, 3061-3069.
- ZHANG P., ZHOU H., YUE-QINCHEN, I-FEI LIU Y. Y LIANG-HU QU. 2005. Mitogenomic perspectives on the origin and phylogeny of living amphibians. *Systematic Biology* 54(3): 391-400.

DISEÑO EXPERIMENTA



ECOLOGÍA DE COMUNIDADES DE LOS PARÁSITOS EN ANFIBIOS MEXICANOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar los factores intrínsecos y extrínsecos implicados en las asociaciones parásito-hospedero en anfibios mexicanos

HIPÓTESIS

Las relaciones parásito-hospedero están determinadas por factores intrínsecos asociados al hospedero (morfología del hospedero) y por factores extrínsecos relacionados al hábitat (variables bióticas y abióticas).

CAPÍTULO 1

Diversidad de ácaros presentes en tres especies de anfibios y su asociación con las características morfológicas del hospedero en la Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas Veracruz

HIPÓTESIS

Las características morfológicas del hospedero (gran tamaño y peso) lo hacen más susceptible a la infección por parásitos

OBJETIVO GENERAL

Analizar la diversidad y los niveles de infestación de los ácaros presentes en 3 especies de anfibios dentro de la Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas y determinar la asociación entre las características morfológicas de los hospederos con los parámetros de infestación de los ácaros

OBJETIVOS PARTICULARES

1.- Realizar la identificación morfológica de los ácaros que infestan a los anfibios, recolectados dentro de la Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas

2.-Obtener los niveles de infestación de los ácaros que infestan a los anfibios recolectados

3.-Analizar la relación entre los parámetros de infestación de ácaros con las características morfológicas de los hospederos

CAPÍTULO 2

Factores bióticos y abióticos del hábitat y su asociación con la presencia de micro y macro parásitos en una especie de anfibio endémica *Tlalocohyla smithii* (Anura: Hylidae)

HIPÓTESIS

Los factores bióticos y abióticos del hábitat están asociados a la presencia y a la relación que existe entre micro y macro parásitos en anfibios

OBJETIVO GENERAL

Registrar las variables bióticas y abióticas del hábitat y analizar su efecto asociado a la presencia de microparásitos y macroparásitos en *Tlalocohyla smithii*

OBJETIVOS PARTICULARES

1.- Caracterizar las variables bióticas y abióticas presentes en los sitios de recolecta de anfibios

2.- Analizar la diversidad de microparásitos y macroparásitos (ácaros, Ranavirus y *Batrachochytrium dendrobatidis*) en los individuos de estudio

3.- Investigar la relación entre las variables bióticas y abióticas del hábitat con la presencia de micro y macroparásitos en anfibios

4.-Analizar la asociación entre las especies de micro y macroparásitos en anfibios

CAPÍTULO 3

Efectos de la antropización del ambiente en las asociaciones y ensamble de parásitos en anfibios mexicanos

HIPÓTESIS

Las comunidades de parásitos en anfibios mexicanos se estructuran de forma aleatoria o no específica y la antropización del ambiente influye en la presencia y asociación entre especies de parásitos en anfibios mexicanos

OBJETIVO GENERAL

Analizar a la comunidad de parásitos en anfibios mexicanos de una escala local a una regional y analizar el efecto de la antropización del ambiente en la co-ocurrencia y asociación de parásitos en anfibios mexicanos.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1.-Realizar un meta-análisis de los parásitos que infestan a los anfibios mexicanos en sitios conservados y antropizados
- 2.-Analizar a la comunidad de parásitos de una escala local a una escala regional
- 3.-Analizar el efecto de la antropización del hábitat en la presencia y asociación de parásitos en anfibios.

CAPÍTULO 1

Diversidad de ácaros presentes en tres especies de anfibios y su asociación con las características morfológicas del hospedero en la Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas Veracruz

New records of amphibians parasitized by chiggers in Los Tuxtlas Biosphere Reserve, Mexico, and taxonomic notes on *Hannemania mexicana* (Acariformes: Prostigmata: Leeuwenhoekiidae)

MÓNICA JACINTO-MALDONADO^{1,2}, RICARDO PAREDES-LEÓN³, GUILLERMO SALGADO-MALDONADO², ANDRÉS GARCÍA⁴ & GERARDO SUZÁN⁵

¹ Doctorado en Ciencias de la Salud y Producción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Av. Universidad 3000, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, 04510, Distrito Federal, México. E-mail: acinom_80@hotmail.com

² Departamento de Zoología, Instituto de Biología, UNAM, Av. Universidad 3000, UNAM, Ciudad Universitaria, 04510, Distrito Federal, México

³ Departamento de Sistemática y Evolución, Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Avenida Universidad 1001, Col. Chamilpa, 62209, Cuernavaca, Morelos, México
Corresponding author. E-mail: ricardo.paredes@uaem.mx

⁴ Estación de Biología Chamela, Instituto de Biología, UNAM. Apdo. Postal 21, San Patricio Melaque, 48980, La Huerta, Jalisco, México

⁵ Departamento de Etología, Fauna Silvestre y Animales de Laboratorio, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, Av. Universidad 3000, UNAM, Ciudad Universitaria, 04510, Distrito Federal, México

Abstract

We conducted a survey on chigger mites infesting amphibians at Los Tuxtlas Biosphere Reserve in Southeast Mexico, where we collected 25 frogs of three species: *Lithobates berlandieri* (n = 5), *L. brownorum* (n = 3) and *L. vaillanti* (n = 17). A total of 916 mites belonging to *Hannemania mexicana* Hoffmann, 1965 were collected. It is the first record of *H. mexicana* in the state of Veracruz and in *L. brownorum* and *L. vaillanti*. The frog species with the highest level of infestation was *L. berlandieri* with a prevalence of 80%, a mean abundance of 56 mites per host, and a mean intensity of 70 mites per infested host. Additionally, to corroborate identification we compared specimens from the type series of *H. mexicana* and we found variation in some characters of taxonomic importance such as the number of setae on leg genu and the shape of the palpal claw.

Key words: Anura, Ranidae, *Lithobates*, Veracruz, infestation, mites.

Introduction

Mites of the genus *Hannemania* Oudemans, 1911 (Acariformes: Prostigmata: Leeuwenhoekiidae) are protelean endoparasites specific to amphibians (frogs, toads, and salamanders); they live under the skin of their hosts and their taxonomy is based on larval characters. There are 25 known species in the genus, which are distributed in the Americas, from United States to Argentina (Alzuet & Mauri 1987; Wohltmann *et al.* 2006). Seven species have been reported from Mexico: *H. anurae* Welbourn and Loomis, 1970, *H. bufonis* Loomis and Welbourn, 1969, *H. hylae* (Ewing, 1925), *H. mexicana* Hoffmann, 1965, *H. monticola* Welbourn and Loomis, 1970, *H. pelaezi* Hoffmann, 1965, and *H. saxicola* Welbourn and Loomis, 1970 (Espino-del Castillo *et al.* 2011). *Hannemania mexicana* has been reported only from Mexico, in San Luis Potosí (Hoffmann 1965) and Puebla (Paredes-León *et al.* 2008).

According to Hoffmann (1965, 1990), the larvae of *H. mexicana* are distinguished morphologically from the other six species of the genus recorded in Mexico by the presence of more than two genualae II and III and the absence of femorala III. In the original description, Hoffmann (1965) does not mention morphological variation among the type specimens (holotype and 24 paratypes), except for the number of genualae I, ranging from 11 to 12.

Hannemania mites can cause alterations in their hosts; they induce the formation of a capsule due to the destruction of cells in the spongy layer of the epidermis where they settle (Duszynski & Kirland 1973). Anthony *et al.* (1994) reported that *Hannemania* causes the loss of chemosensory function, and damages their host's ability to forage and reproduce (by affecting their capacity to detect preys, rivals or potential mates), particularly when the mite is housed in the nasolabial groove (a structure involved in the chemoreception). Moreover, according to an experimental study by Maksimowich and Mathis (2000), the males with a high parasitic load were less aggressive and successful in territorial disputes than those with a less load. Similarly, females with a higher parasite load were less successful in getting and eating more food.

As *Hannemania* mites can affect the behaviour, reproduction, and survival of parasitized amphibians and there are only few studies on them, more research of these endoparasites is needed. The objective of this investigation is to analyse the parasitic load of mites on their hosts and to report the morphological variation of *Hannemania mexicana*, based on the type and voucher specimens.

Materials and methods

Study Area

Specimens were collected in Laguna Escondida, a permanent lagoon located at 18° 35' 32" N, 95° 05' 15" W and Laguna del Zacatal, a temporary lagoon located at 18° 35' 03" N and 95° 05' 25" W, within Los Tuxtlas Biosphere Reserve (LTBR), in southern Veracruz, Mexico. The original dominant vegetation type was tropical rainforest (now fragmented), the altitude ranges from 0 to 350 meters above sea level (m a.s.l.), the mean annual rainfall is 4964 mm (Estrada *et al.* 1985) and the dry season occurs between March and May. The temperature ranges from 13° C in February to 35° C in May; the mean annual temperature is 27° C. There are 45 species of amphibians recorded in LTBR (González-Soriano *et al.* 1997).

Specimen collection

In June and November of 1996, endoparasitic mites were collected from three host species: *Lithobates berlandieri* (Baird, 1859), *L. brownorum* (Sanders, 1973), and *L. vaillanti* (Brocchi, 1877) (Amphibia: Anura: Ranidae). Parasitized individuals were euthanized following the protocol by Close *et al.* (1997). For each host specimen, the number of mites, the weight in grams (g), the snout-vent length (SVL) in millimetres (mm) and gender (when determined) were recorded.

Lithobates berlandieri is distributed from southern New Mexico (United States) to northeast Nicaragua, from sea level to 2595 m a.s.l. (west of Chihuahua); it tends to be abundant and has terrestrial habits (Clarkson & Rorabaugh 1989; Platz *et al.* 1990; Platz 1991). *L. brownorum* is distributed from southern Veracruz (Mexico) to Nicaragua and is also an abundant species that can be found along streams and rivers, in grasslands, shrublands, and wooded areas (Frost, 2009). *L. vaillanti* is distributed from north-central Veracruz, Oaxaca and Chiapas (Mexico) to southwestern Ecuador; it lives from sea level to 750 m a.s.l. in dry and humid tropical forests; it survives also in altered anthropogenic habitats. Like above species, it is an abundant, terrestrial frog that can also be associated with water bodies, particularly ponds. These three frog species have the "least concern"

conservation status according to the IUCN Red List of Threatened Species (Santos-Barrera *et al.* 2008, 2010).

Mite identification

All mites were extracted from the host skin, counted and preserved in 70% ethanol. We selected one to 10 mites from each host specimen, cleared them with lactophenol and then mounted them individually in semi-permanent microscope slides with Hoyer's medium (Krantz and Walter 2009). After 48 hours, we examined the mites at magnifications of 1000x using a Nikon Optiphot Two compound microscope (Tokyo, Japan) supplied with the phase contrast and differential interference contrast device. Taxonomic identification was made using the keys by Brennan and Goff (1977) and Hoffmann (1990). Setal nomenclature follows Goff *et al.* (1982). The mites are deposited at the Colección Nacional de Ácaros (CNAC), Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico.

Additionally, for taxonomic purposes, we carried out comparisons of morphological characters from our material (collection Nos. CNAC009125–009210), type series (the holotype and a paratype, CNAC000146–7), and voucher specimens of *Hannemania mexicana* including those with the same data as type series (CNAC009123–4) and specimens from Puebla (CNAC009118–22) [the latest correspond to specimens mentioned by Paredes-León *et al.* (2008)]. The specimens, which were not mounted, are preserved in 70% ethanol (CNAC0099212–27).

Data analysis

Parasitic load was analysed according to the parameters proposed by Bush *et al.* (1997). To determine if there is a relationship between the degree of infestation (abundance of parasitic mites) and body length or weight of the host, we performed a linear regression in MASS package (Venables and Ripley 2002) implemented in the software R (R Development Core Team 2012). Finally, we performed a Kruskal-Wallis test using package PMCMR (Pohlert 2014) implemented in the R (R Development Core Team 2012), in order to estimate the significance of the morphological differences exhibited by the mites (number of genualae I–III and number of prongs of palpal claw) from different localities (LTBR, San Luis Potosí, and Puebla).

Results

We examined 25 individuals of the three amphibian species: *L. vaillanti* ($n = 17$), *L. berlandieri* ($n = 5$) and *L. brownorum* ($n = 3$), from two lagoons at LTBR. They carried 916 mites, all belonging to *H. mexicana* (Table 1). This is the first record of mites of the genus *Hannemania* in the State of Veracruz, Mexico. It is also the southernmost record of *H. mexicana* in Mexico, extending their distribution ca. 300 km as compared with the nearest record in Sierra Norte, Puebla. Moreover, *L. brownorum* and *L. vaillanti* constitute two new host records for *H. mexicana*.

Lithobates berlandieri exhibited the highest level of prevalence with 80% of the hosts infested with mites, mean abundance of 56 mites per host, and mean intensity of 70 mites per infested frog. The highest abundance of mites was found in *L. vaillanti* with 528 individuals (Table 1).

Hannemania mexicana exhibits intra- and interpopulation variation in some taxonomic characters. This variation includes: number of genualae I: 9–15; genualae II: 2–5; genualae III: 3–6; the palpal claw can be bi- or trifurcate (Table 2). Conversely, the absence of femorala III, the presence of one seta on coxa III and the shape (nude) of parasubterminala I are consistent characters in all examined specimens. The results of the Kruskal-Wallis tests were not significant, except for

the number of genualae III between specimens from LTBR (4.6 ± 0.6) and San Luis Potosí (5.8 ± 0.7) that shown a statistically significant difference (H: 17.76, $p = 0.0001$).

No relationship was found between the abundance of chiggers and the body size ($R^2 = 0.0125$, $p = 0.6577$, $y = -0.1445x + 81.2900$) and weight ($R^2 = 0.0003$, $p = 0.9404$, $y = 0.0360x + 47.1073$) of the host.

TABLE 1. Parasitized frogs and parameters of infestation by mites, in two lagoons at Los Tuxtlas Biosphere Reserve. (g: grams, mm: millimetres, N: sample size, SD: standard deviation).

Characteristics	Host species		
	<i>Lithobates vaillanti</i>	<i>Lithobates berlandieri</i>	<i>Lithobates brownorum</i>
N	17	5	3
Females	8	3	1
Males	9	1	0
Gender undetermined	0	1	2
Weight (g) mean \pm SD	57.8 \pm 23.58	74.5 \pm 36.37	40.1 \pm 3.6
SVL (mm) mean \pm SD	126 \pm 13.88	89.62 \pm 16.49	75 \pm 3
Total number of mites	528	280	108
Prevalence (% of infested hosts)	70	80	66
Mean abundance of mites	31	56	36
Intensity of infestation (mean and range)	44 (5–196)	70 (2–118)	54 (45–63)

TABLE 2. Diagnostic characters of *Hannemania mexicana* based on specimens from different localities in Mexico. In parentheses, the number of specimens with that number of specialized setae (genualae) and number of prongs (palpal claw) are indicated.

Locality Characters	LTBR, Veracruz	San Luis Potosí (by Hoffmann 1965)	San Luis Potosí (type series)	San Luis Potosí (topotypic material)	Puebla
Number of genualae I	9 (1)	11–12	12 (Holotype) 14 (Paratype)	12 (2) 13 (3) 15 (1)	11 (1) 12 (2) 13 (1) 14 (1)
	10 (8)				
	11 (8)				
	12 (13)				
	13 (14)				
Number of genualae II	14 (8)	4	4	3 (3) 4 (3)	3 (3) 4 (2)
	2 (2)				
	3 (29)				
	4 (21)				
Number of genualae III	5 (1)	6	5 (Holotype) 6 (Paratype)	5 (2) 6 (3) 7 (1)	4 (1) 5 (4)
	3 (2)				
	4 (16)				
	5 (32)				
Palpal claw	6 (1)	Bifurcate	Bifurcate (Holotype) Trifurcate (Paratype)	Bifurcate (1) Trifurcate (4)	Trifurcate
	Bifurcate (8) Trifurcate (44)				

Discussion

We consider the mites from LTBR to be conspecific with *H. mexicana* based on the diagnostic characters; however, we discovered some variation in the number of setae (mainly, genualae II and III). The same variation was also found in type series (from San Luis Potosí) and voucher specimens (from Puebla and San Luis Potosí). These findings contrast with the data from the original description, in which Hoffmann (1965) mentioned variation in the number of genualae I only.

While the infestation with mites can indirectly affect the survival of amphibians by lowering their effectiveness to forage (Anthony *et al.* 1994) and to defend their territory (Maksimowich & Mathis 2000), there are only few studies focused on the interaction between mites and amphibians. One of them, carried out during nine months in Texas (United States) by Jung *et al.* (2001), found a prevalence of 88%, a mean abundance of 45 mites per host, and an intensity interval of 3–140 in *L. berlandieri*. In same host species, we found similar infestations: prevalence of 80%, a mean abundance of 56, and an intensity interval of 2–118.

In another study concerning the prevalence of *Hannemania* mites on *L. palustris* (LeConte, 1825) in Arkansas (United States), McAllister *et al.* (1995) found a lower infestation value (prevalence 4%) than Jung *et al.* (2001), and also lower than that reported in our study. These differences could be caused by environmental factors, because hatching success, growth and development of chigger mites are expected to be greater at higher temperatures and humidity levels (Hoffmann 1970).

Another survey conducted by Goldberg *et al.* (2002) found that the infestation parameters of *H. monticola* on *L. tarahumarae* (Boulenger, 1917) in Sonora (Mexico) were lower (mean: 5; intensity interval: 4–8; prevalence: 33%) than those that we found for three species of *Lithobates* (Table 1). Among the factors that could be influencing these results, the higher humidity in tropical rainforest at LTBR than in arid Sonora (García & CONABIO 1990) might favour the abundance of *H. mexicana*. Another factor that could be involved in the differences found in the parasitic loads might be the distinct sample sizes in the contrasted studies.

No relationship was found between the body size and weight of the three *Lithobates* species and the abundance of parasitic chiggers. Similar results were found in other studies concerning chiggers and frogs. For example, the intensity of infestation by *Hannemania* sp. was not affected by the body size of adults hosts *Hylodes phyllodes* Heyer and Cocroft, 1986 (Hatano *et al.* 2007); no significant relationship between the abundance of *Hannemania* sp. and SVL of *Leptodactylus chaquensis* Cei, 1950 was found by Attademo *et al.* (2012); and relationship was absent between the intensity of *H. achalaei* Alzuet and Mauri, 1987 and the body size of adult frogs *Pleurodema kriegi* (Müller, 1926) and *P. cordobae* Valetti, Salas and Martino, 2009 (Biolé *et al.* 2015). The similar conclusions were made in a number of other studies (Welbourn and Loomis 1975; McAllister 1991; McAllister *et al.* 1995; Sladky *et al.* 2000; Brown *et al.* 2006; Torrence *et al.* 2007; Westfall *et al.* 2008).

Conclusions

Based on the type and voucher specimens, we report here a morphological variation in some characters of taxonomic importance for *H. mexicana*. These characters (i.e. numbers of genualae I–III and number of prongs of palpal claw) are usually used to identify species in the genus *Hannemania*. Although we consider this variation as intraspecific for *H. mexicana*, further investigations involving all stages of the life cycle and probably molecular data are needed to establish its nature more definitely. As it was shown in our results, there was a statistically significant difference between specimens from LTBR and San Luis Potosí at least in the number of genualae III.

Due to the potential damage caused by *Hannemania* chiggers to their amphibian hosts, we consider convenient to carry out more research focused on these interactions. In this study, we found that size and weight of the host do not correlate with the level of its infestation by *H. mexicana*. Therefore, to get stronger conclusions, it is necessary to analyse other amphibian populations infested by chiggers, implementing homogeneous sampling program along different seasons. The knowledge generated from a better understanding of host-parasite relationships and of the biology of both symbionts, could be integrated into conservation strategies of threatened areas as the tropical rainforest at LTBR.

Acknowledgements

Thanks to Griselda Montiel and Tila M. Pérez of Colección Nacional de Ácaros (CNAC) of Instituto de Biología (IB), UNAM, for granting access to CNAC where the specimens were studied. Field trips were supported by a grant of Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO S137). We are grateful to the students of the helminthology lab. (IB, UNAM) who collected mites in Veracruz and, in particular, to Cristina Cañeda. We also thanks to Deyanira Pérez and André Rubio for their support with the statistical tests. A draft of this paper was kindly reviewed by Margarita Ojeda and David Ortiz (IB, UNAM). We are grateful to editorial board of *Systematic & Applied Acarology*, Zhi-Qiang Zhang (Editor-in-chief) and Alexandr A. Stekolnikov (Referee) for useful comments which improved this manuscript.

References

- Alzuet, A.B. & Mauri, R.A. (1987) Ácaros Trombiculidae del género *Hannemania* Oudemans, endoparásitos de anfibios. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 44, 111–116.
- Anthony, C.D., Mendelson III, J.R. & Simons, R. (1994) Differential parasitism by sex on plethodontid salamanders and histological evidence for structural damages to the nasolabial groove. *American Midland Naturalist*, 132, 302–307.
<http://dx.doi.org/10.2307/2426586>
- Attademo A.M., Peltzer P.M., Lajmanovich R.C., Junges C., Bassó A. & Cabagna-Zenklusen M. (2012) Trombiculid mites (*Hannemania* sp.) in *Leptodactylus chaquensis* (Amphibia: Anura) inhabiting selected soybean and rice agroecosystems of Argentina. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 43, 579–584.
<http://dx.doi.org/10.1638/2012-0089.1>
- Biolé, F.G., Valetti, J.A., Grenat, P.R., Salas, N.E. & Martino, A.L. (2015) Parasitic infestation of intradermal chiggers *Hannemania achalai* (Acari: Leeuwenhoekiiidae) on the cryptic species *Pleurodema kriegi* and *P. cordobae* (Anura: Leptodactylidae: Leiuperinae) from Sierra Grande, Córdoba, Argentina. *Herpetological Journal*, 25, 163–167.
- Brennan, J.M. & Goff, M.L. (1977) Keys to the genera of chiggers of the Western hemisphere (Acarina: Trombiculidae). *Journal of Parasitology*, 63, 554–566.
- Brown, J.D., Keel, M.K., Yabsley, M.J., Thigpen, T. & Maerz, J. (2006) Clinical Challenge. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 37, 571–573.
- Bush, A., Lafferty, K., Lotz J. & Shostak, A. (1997) Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al revisited. *Journal of Parasitology*, 83, 575–583.
- Clarkson, W.R. & Rorabaugh, J.C. (1989) Status of leopard frogs (*Rana pipiens* complex: Ranidae) in Arizona and southeastern California. *Southwestern Naturalist*, 34, 531–538.
- Close, B., Banister, K., Baumans, V., Erhardt, W., Flecknell, P., Gregory, N., Hackbarth, H., Morton, D. & Warwick, C. (1997) Recommendations for euthanasia of experimental animals. *Laboratory Animals*, 31, 1–32.
- Duszynski, D. & Kirland, J. (1973) The occurrence of intradermal mites, *Hannemania* spp. (Acarina: Trombiculidae) in anurans in New Mexico with a histological description of the tissue capsule. *International*

- Journal for Parasitology*, 3, 531–538.
[http://dx.doi.org/10.1016/0020-7519\(73\)90050-7](http://dx.doi.org/10.1016/0020-7519(73)90050-7)
- Espino-del Castillo A., Paredes-León, R. & Morales-Malacara, J.B. (2011) Presence of intradermal chigger mite *Hannemania hylae* (Ewing, 1925) (Acari: Leeuwenhoeekiidae) in the troglomorphic frog *Eleutherodactylus longipes* (Anura: Brachycephalidae) at Los Riscos cave, Queretaro, México. *International Journal of Acarology*, 37, 427–440.
<http://dx.doi.org/10.1080/01647954.2010.525522>
- Estrada, A., Coates-Estrada R. & Martínez-Ramos, M. (1985) La Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas: un recurso para el estudio y conservación de las selvas del trópico-húmedo. In: del Amo-Rodríguez, S. & Gómez-Pompa, A. (eds). *Investigaciones sobre la regeneración de selvas altas en Veracruz, México*. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos y Alhambra, 379–395.
- Frost, D.R. (2009) Amphibian species of the world: an online reference. Version 5.3 (12 February, 2009). Electronic Database available from: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/> American Museum of Natural History, New York, USA.
- García, E. & CONABIO. (1990) Rangos de humedad (extraído de Climas). IV.4.10. Atlas Nacional de México, Vol. II. Escala 1:1,000,000. Instituto de Geografía, UNAM, México.
- Goff, M.L., Loomis R.B., Welbourn W.C. & Wrenn, W.J. (1982) A glossary of chigger terminology (Acari: Trombiculidae). *Journal of Medical Entomology*, 19, 221–238.
- Goldberg, S.R., Wrenn W.J. & Bursey, C.R. (2002) *Bufo mazatlanensis* (Sinaloa toad), *Rana tarahumarae* (Tarahumara frog). Ectoparasites. *Herpetological Review*, 33, 301–302.
- González-Soriano, E., Dirzo, R. & Vogt, R.C. (1997) *Historia Natural de Los Tuxtlas*. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), México Distrito Federal, México, 647 pp.
- Hatano F.H., Gettinger D., Van Sluys, M. & Rocha C.F. (2007) Parasitism of *Hylodes phyllodes* (Anura: Cycloramphidae) by *Hannemania* sp. (Acari: Trombiculidae) in an area of Atlantic Forest, Ilha Grande, South-eastern Brazil. *Parasite*, 14, 107–112.
<http://dx.doi.org/10.1051/parasite/2007142107>
- Hoffmann, A. (1965) Contribuciones al conocimiento de los trombicúlidos mexicanos (Acarina: Trombiculidae). 11ª parte. *Folia Entomológica Mexicana*, 9, 3–18.
- Hoffmann A. (1970) Estudio monográfico de los trombicúlidos de México (Acarida: Trombiculidae). *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas*, 18, 191–263.
- Hoffmann A. (1990) Los Trombicúlidos de México (Acarida: Trombiculidae). *Publicaciones Especiales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México*, 2, 1–275.
- Jung, R.E., Claeson S., Wallace, J. & Welbourn, W.C. (2001) *Eleutherodactylus guttilatus* (spotted chirping frog), *Bufo punctatus* (red-spotted toad), *Hyla arenicolor* (canyon tree frog), and *Rana berlandieri* (Rio Grande leopard frog). Mite infestation. *Herpetological Review*, 32, 33–34.
- Krantz, G.W. & Walter D.E. (2009) Collecting, rearing and preparing specimens. In: Krantz, G.W. & Walter D.E. (eds). *A manual of Acarology*. Third edition, Texas Tech University Press, 86–96.
- Maksimowich, D.S. & Mathis, A. (2000) Parasitized salamanders are inferior competitors for territories and food resources. *Ethology*, 106, 319–329.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1439-0310.2000.00526.x>
- McAllister, C.T. (1991) Protozoan, helminth, and arthropod parasites of the spotted chorus frog, *Pseudacris clarkii* (Anura: Hylidae) from North-central Texas. *Journal of the Helminthological Society of Washington*, 58, 51–56.
- McAllister, C.T., Trauth, S.E. & Bursey, C.R. (1995) Parasites of the pickerel frog, *Rana palustris* (Anura: Ranidae), from the Southern part of its range. *Southwestern Naturalist*, 40, 111–116.
- Paredes-León, R., García-Prieto, L., Guzmán-Cornejo, C., León-Regágnon V. & Pérez, T.M. (2008) Metazoan parasites of Mexican amphibians and reptiles. *Zootaxa*, 1904, 1–166.
- Platz, J.E. (1991). *Rana berlandieri*. *Catalogue of American amphibians and reptiles*. 508, 1–4.
- Platz, J.E., Clarkson R.W., Rorabaugh, J.C. & Hillis, D.M. (1990) *Rana berlandieri*: recently introduced populations in Arizona and southeastern California. *Copeia*, 2, 324–333.
<http://dx.doi.org/10.2307/1446338>
- Pohlert, T. (2014). The Pairwise Multiple Comparison of Mean Ranks Package (PMCMR). Available from: <http://cran.r-project.org/web/packages/PMCMR/PMCMR.pdf>
- R Development Core Team (2012). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available from: <http://www.Rproject.org/>

- Santos-Barrera, G., Hammerson, G., Köhler, G., Wilson, L.D., Lee J. & Cedeño, V.R. (2010) *Lithobates berlandieri*. In: IUCN Red List of Threatened Species. Edition 2013.1. Available from: <http://www.iucnredlist.org>. Downloaded on 23 September 2013.
- Santos-Barrera, G., Solis, F., Ibáñez, R., Chaves, G., Bolaños F., Wilson L.D., Castro, F., Coloma, L.A., Ron, S., Acosta-Galvis, A. & Morales, M. (2008) *Lithobates vaillanti*. In: IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.2. Available from: <http://www.iucnredlist.org>. Downloaded on 13 March 2014.
- Sladky, K.K., Norton, T.M. & Loomis, M.R. (2000) Trombiculid mites (*Hannemania* sp.) in canyon tree frogs (*Hyla arenicolor*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 31, 570–575.
[http://dx.doi.org/10.1638/1042-7260\(2000\)031\[0570:TMHSIC\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1638/1042-7260(2000)031[0570:TMHSIC]2.0.CO;2)
- Torrence, S.M., Smith L.M. & McMurry S.T. (2007) Larval *Hannemania* sp. infestations of *Spea* spp. in the southern High Plains, Texas, USA. *Journal of wildlife diseases*, 43, 742–746.
<http://dx.doi.org/10.7589/0090-3558-43.4.742>
- Venables, W.N. & Ripley, B.D. (2002) *Modern Applied Statistics with S*. Fourth Edition. Springer, New York, 498 pp.
- Welbourn, W.C. & Loomis R.B. (1975) *Hannemania* (Acarina: Trombiculidae) and their anuran host at forty-nine Palms Oasis, Joshua tree National Monument, California. *Bulletin Southern California Academy of Sciences*, 74, 15–19.
- Westfall, M.C., Cecala K.K., Price S.J. & Dorcas M.E. (2008) Patterns of trombiculid mite (*Hannemania dunnii*) parasitism among plethodontid salamanders in the western piedmont of North Carolina. *Journal of Parasitology*, 94, 631–634.
<http://dx.doi.org/10.1645/GE-1260.1>
- Wohltmann, A., Köhler, J. & Martin, P. (2006) Endoparasitic mite infection of anuran amphibians from Bolivian montane rain forests, with descriptions of two new *Hannemania* species (Acari: Parasitengona: Trombiculidae: Leeuwenhoekinae). *Organisms Diversity & Evolution*, 6, 141–150.

Submitted: 17 Jun. 2015; accepted by Zhi-Qiang Zhang; 29 Oct. 2015; published: 15 Jan. 2016

1 Biotic and abiotic factors related to *Hannemania hylae*, *Batrachochytrium*
2 *dendrobatidis* and *Ranavirus* on the endemic frog *Tlalocohyla smithii* (Anura:
3 Hylidae)

4 Jacinto-Maldonado M^{1,2}, García Peña. G. E³, Paredes-León R⁴, Sarmiento Silva R. E⁵,
5 Martínez G. D⁶, Saucedo B⁷, García A⁸, Ojeda M⁴, Enrique del Callejo⁹, Suzán G²

6 1Doctorado en Ciencias de la Salud y Producción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y
7 Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Av. Universidad 3000,
8 Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, 04510, Distrito Federal,
9 México. E-mail: acinom_80@hotmail.com

10 2Departamento de Etología, Fauna silvestre y Animales de Laboratorio, Facultad de Medicina
11 Veterinaria y Zootecnia, UNAM, Av. Universidad 3000, UNAM, Ciudad Universitaria, 04510,
12 Distrito Federal, México.

13 3Departamento de Publicaciones, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, Av.
14 Universidad 3000, UNAM, Ciudad Universitaria, 04510, Distrito Federal, México 6Estación de
15 Biología Chamela, Instituto de Biología, Apdo. Postal 21, San Patricio Melaque, 48980, La Huerta,
16 Jalisco, México.

17 4Colección Nacional de Ácaros, Instituto de biología Universidad Nacional Autónoma de México.

18 5Departamento de Microbiología e Inmunología, Laboratorio de Virología, Facultad de Medicina
19 Veterinaria y Zootecnia, UNAM, Av. Universidad 3000, UNAM, Ciudad Universitaria, 04510,
20 Distrito Federal, México.

21 6Departamento de Producción Agrícola y Animal. Universidad Autónoma de México. Unidad
22 Xochimilco. Prol. Canal de Miramontes 3855. C.P. 14387, Ciudad de México.

23 7Departamento de Patobiología Universidad Utrecht, Yalelaan 1, Utrecht, The Netherlands.

24 8Estación de Biología Chamela, Instituto de Biología, Apdo. Postal 21, San Patricio Melaque,
25 48980, La Huerta, Jalisco, México.

26 9Centro de Ciencias de la Complejidad C3 Universidad Nacional Autónoma de México

27

28

29

30

31

32

ABSTRACT

33

34

35 Emergent diseases affecting wildlife populations have increased in recent years, causing the
36 mortality and population demise of different species around the world. Particularly for amphibians,
37 there are two emergent pathogens that can cause worldwide mortality: the pathogenic fungus
38 *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) and the virus *Ranavirus* (Rv). Other parasites such as chigger
39 from the *Hannemania* genus can also be present and a few information exists about them.
40 However, knowledge regarding co-infection with Bd fungus, Rv virus and chiggers is unknown.
41 This is an important issue, as we know that parasites are never found independently, since these
42 species interact all the time and co-occur in their hosts.

43 Studies focusing on the endemic Mexican amphibians are scarce, so the risk factors and responses
44 regarding the co-occurrence of those emergent diseases and/or parasites are unknown. Moreover,
45 there are only few studies in Mexico regarding the biotic and abiotic factors that may facilitate or
46 mitigate the frogs' infection with these pathogens. In this research, we studied the susceptibility of
47 the endemic frog *Tlalocohyla smithii* to get infected with Bd and Rv, and whether this infection
48 becomes increased in the presence of chigger (endoparasites). In addition, we analyzed the biotic
49 and abiotic factors related to the presence of each parasite. A total of 116 individuals of *T. smithii*
50 were studied during 2014 and 2016, on three streams located within the Biosphere Reserve of
51 Chamela Cuixmala in the state of Jalisco, Mexico. The results showed that frogs were infected with
52 Bd (prevalence = 2.6%), but not with Rv. The prevalence of *Hannemania hylae* mites was 31%.
53 There was no association between the presence of mites and the Bd infection. Amphibians that live
54 in habitats with a higher canopy and warmer temperatures were more susceptible to be infected with
55 mites, compared with the amphibians living in colder and moister microhabitats. Bd infection was
56 always present in the amphibians that were found in humid habitats, such as the ones closer to the
57 streams.

58 These results suggest that some specific microhabitats favor the infection with mites, whereas
59 others favor the Bd infection. Here we show the first record of the mite *Hannemania hylae* on
60 *Tlalocohyla smithii* and it is the first monitoring of Rv in Mexico. In addition, we demonstrate the
61 presence of Bd at this specific location on the Pacific Coast of the country.

62 Mexico ranks fifth worldwide in terms of amphibian diversity and has 252 endemic amphibian
63 species, where 164 are consider threatened by the IUCN. So, it is a priority to study the spread of
64 these pathogens on the country and to implement actions in order to ensure the conservation of
65 amphibians amid this devastating pandemic.

66

67 Keywords: amphibia, ecology, Bd, chigger, mite, FV3, ranaviriosis, emerging disease

68 INTRODUCTION

69 Recently, emergent infectious diseases have increased worldwide causing mortality in different
70 animal groups (Keesing et al., 2010). In frogs *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) and *Ranavirus*
71 (Rv) are considered emerging pathogens threatening frogs populations (Gray et al., 2009). Bd has
72 been detected in 700 amphibian species worldwide, and it is considered as the main cause of
73 diversity loss in vertebrates in past years (Gervasi et al., 2017). In addition, six types of Rv have
74 been recognized, causing infections in at least 175 species (52 families) of ectothermic vertebrates
75 across the world (e.g. in 32 countries within six continents). Rv is responsible for producing
76 amphibian mortality worldwide, both in captivity and wildlife (Duffus et al., 2015). While evidence
77 suggests that amphibians are facing a pandemic of Bd and Rv, there is little information about the
78 status of endemic species in different countries with high numbers. Therefore, we do not know the
79 level of risk that species are suffering, as well as the type of actions that need to be implemented in
80 order to ensure their conservation.

81 Biotic and abiotic factors can decrease or facilitate the infection of frogs with pathogens, such as Bd
82 and Rv (Brunner et al., 2015). Hoverman et al. (2011), Rojas et al. (2005) and Brand et al. (2016)
83 reported higher prevalences of *Ranavirus* associated to warmer water temperatures. However, those
84 findings are different to the ones reported by Gray et al. (2007). The latter authors mentioned that
85 the replication rates of the pathogens and the kinetics of the immune response of the host could be
86 readily affected by temperature. In addition, evidences regarding the *Ranavirus* dependence to the
87 host type and temperature have been previously reported (Speare and Smith 1992; Grant et al.,
88 2003; Rojas et al., 2005; Ariel et al., 2009). Bd presence has been associated to the quantity and
89 temperature of water, as well as the humidity of the environment (Murrieta-Galindo et al., 2014).
90 Frainer et al., (2018) suggest a relationship between the diversity of amphibian species and the
91 presence of parasites. Other studies suggest that the epidemics caused by *Iridovirus* are related to
92 degrade areas, such as the artificial ponds used for cattle; as well as, disturbed sites with a lower

93 canopy, where amphibians can be found in higher concentrations (Gray et al., 2007; Greer et al.,
94 2008; Hoverman et al., 2012). Biotic interactions like the interactions between the host and the
95 parasites are also important. Often in nature, pathogens can be found simultaneously in the host and
96 the environmental changes can drive some exchanges in the ecological interactions, resulting in
97 some additive, antagonistic or synergic effects within the community (Romansic et al., 2011).
98 Amphibian parasites such as mites, have been studied to a lesser extent (Paredes-Leon et al., 2008)
99 and their study related to the co-occurrence between another kind of parasites does not exist.

100 Investigations focusing on biotic and abiotic factors, the presence of different types of parasites
101 such as virus, fungi and mites among others, and the relationship between them (facilitation,
102 exclusion or co-occurrence) is scarce (Koprivnikar et al., 2012). For example, we don't know if
103 some chiggers that infect frogs (e.g. mites) can impair the immune response of these amphibians
104 against Bd and Rv, facilitating their infection with these pathogens.

105 Amphibian species are the most threatened vertebrate group on the planet (Fisher et al., 2009).
106 Mexico has a total of 16 amphibian families belonging to 3 orders and therefore it is ranked fifth for
107 amphibian diversity (394 species), third in endemic species (252 amphibian species) and second for
108 the number of threatened species (164 amphibian species) (IUCN, 2017). Jhonson et al. (2017)
109 mention the greatest number and highest percentages of endemism are seen in the Hylidae (65
110 species; 68.1% endemism), Craugastoridae (26; 65.0%), and Eleutherodactylidae (20; 80.0%).
111 Endemic species are often integrated by small populations (i.e. lower amounts of organisms),
112 restricted within small and very specific geographical areas, where conservation and protection
113 programs are not implemented, resulting as consequence that the species become more vulnerable
114 to extinction (Gaston, 1998). For these reasons, we consider as a priority to develop research that
115 includes endemic amphibians, their parasites and their relationship with biotic and abiotic factors.

116 The endemic amphibian species *Tlalocohyla smithii* (*T. smithii*), commonly known as the Dwarf
117 mexican treefrog (Boulenger, 1902) had been previously classified within the genus *Hyla*, but

118 recently it was reclassified into the *Tlalocohyla* genus (Faivovich et al., 2005). This frog is
119 distributed from central Sinaloa to the south, along the lowlands of the Pacific, up to the south of
120 Oaxaca and towards the Balsas River within the Tepalcatepec basin in the states of Morelos and
121 Puebla, Mexico. This frog can be found even in tropical deciduous forests at 1332 masl, associated
122 to temporal streams and ponds where it reproduces. It has terrestrial habits but also is frequently
123 found in tree branches. According to the IUCN, the *T. smithii* population is not considered
124 threatened. However, the deforestation rate in Mexico and the Mexican Pacific is alarming, since
125 the distribution of this species is located within this area (Trejo and Dirzo, 2000). At the moment,
126 studies regarding the presence of parasites on *T. smithii* are unknown. Therefore, the aim of this
127 study was to determine the presence and prevalence of Bd and Rv pathogens, along with
128 endoparasitic mites, on the *T. smithii* endemic frog (Boulenger, 1902). Additionally, we analyzed
129 the relationship between the presence of these parasites and the biotic and abiotic factors involved.

130 MATERIALS AND METHODS

131 The study was performed at the Chamela Cuixmala Biosphere Reserve in the state of Jalisco,
132 Mexico. This place is located on the Pacific west coast of Mexico, within a region dominated by
133 mountains and alluvial flatlands. Vegetation is dominated by tropical deciduous forest. The climate
134 is warm and humid with an annual temperature of 24.9 °C and a remarkable seasonality. The
135 programs in the Reserve have been very successful in protecting more than 85 types of reptiles and
136 amphibians (Ceballos and Garcia 1995).

137 Sampling was performed during the months of November 2014 and 2016. During the year of 2014,
138 specimens of the *T. smithii* were collected from different sites along three seasonal streams (Zarco,
139 Colorado and Hornitos) located inside the Chamela's Biological Station. The distance between each
140 site was approximately of 300 m as minimum, in order to assure that the collected specimens in one
141 location were not able to migrate from one site to another. During 2016, the rainy season was
142 scarce, and the Colorado and Hornitos streams dried out; so we only collected the samples along the

143 Zarco stream. Here, we collected individuals of *T. smithii* in four sites with a distance of
144 approximately 300 m as minimum between each of them (Figure 1 and 2 in Appendix I).

145 All specimens were manually collected with a scientist collector permission FAUT-0250, Gerardo
146 Suzán.

147 **Mite processing (Extraction and identification)**

148 To carry out the parasitological study, we obtained all the diagnostic morphological measurements
149 of each host. A stereoscopic microscope was used for frog examination, where the skin of each
150 individual was checked for the presence of mites on both dorsal and ventral sides. The mites were
151 extracted with the help of needles and tweezers and were preserved in 70% and 98% ethanol. For
152 mite preparation, we made microscope slides using lactophenol as a clearing medium and Hoyer´s
153 medium for mounting them. Taxonomic identification was based on Sinsch (1990) and Brennan and
154 Goff (1977). Infection loads were characterized using the parameters established by Bush et al.,
155 (1997). The mites were deposited in the National Collection of Mites (CNAC) from the Biology
156 Institute, UNAM with the access number: CNAC 00123-00160.

157 ***Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) detection**

158 At Utrecht University the swab protocol was performed as follows (Boyle et al., 2004). Extraction:
159 the nucleic acid extraction from swabs was carried out using the PrepMan Ultra kit. A total of 40 µl
160 of PrepMan Ultra were added to each swab and 40 mg of zirconia/silica pearls with 0.5 mm of
161 diameter (Biospec) were added to a tube. Each tube was homogenized twice for 1 min and
162 centrifuged 30 seconds at 13X103 g. The obtained elements were placed in a water bath and boiled
163 for 10 min. Then, they were cooled at room temperature for 2 min. Next, they were centrifuged at
164 13,000 g for 3 min. A total of 20-25 µl were recovered, quantified in nanodrop and then stored at -
165 80 °C until conventional PCR was performed, as previously reported in the literature (Boyle et al.,
166 2004).

167 To determine the presence of Bd, a positive control was used provided by the Utrecht University. A
168 set of primers amplified a 147 bp product. The thermocycler conditions were set at 94°C for 5 min;
169 30 cycles of 94°C for 45 seconds; 50°C for 45 seconds; 72°C for 45 seconds, and a final extension
170 of 72°C for 5 min. The primers and conditions were based on (Annis et al., 2004). The obtained
171 PCR product was visualized in 1% agarose gel dyed with ethidium bromide.

172 ***Ranavirus* detection**

173 At Virology laboratory, faculty of Veterinary Medicine UNAM, DNA was extracted from 100 mg
174 of tissue samples from the following organs: heart, liver, kidney, spleen and skin. We used a
175 Purelink Genomic DNA kit following the provider's instructions; although, a disintegration step
176 was added to the sample, using sterile sand.

177 In order to confirm that the extraction was performed correctly, an external extraction control
178 (CEE) was applied. The detailed information is shown in the appendix 2.

179 Before the *Ranavirus* detection, an internal amplification control (IAC) was used for the *Ranavirus*
180 PCR. The IAC made by Campos (2014). The detailed information is show in the appendix 3.

181 Afterwards, the *Ranavirus* amplification was carried out based on the FV3 genome (AY548484),
182 using the primers reported by (Boyle et al., 2004): Forward 5´GACTTGGCCACTTATGAC-3´and
183 Reverse 5´GTCTCTGGAGAAGAAGAA-3, for the amplification of a 531 bp product. These
184 attached to a conserved region of the Mayor Capsid Protein gene (MCP) that is present in the
185 *Iridoviridae* family. Each individual DNA sample was analyzed. A total of 2 µl of IAC were added
186 to the reaction sample at a 0.1 ng/µl concentration; the primers' concentration was of 20nM. We
187 used a Master Mix (2X) PCR kit. PCR conditions were: an initial denaturalization of 94°C for 5
188 min; 30 cycles at 94°C for 1 min; an alignment at 52°C for 1 min, an extension at 72°C for 1 min,
189 and finally an extension of 72°C for 5 min. The obtained PCR product was visualized in 1%
190 agarose gel dyed with ethidium bromide.

191 **Abiotic and biotic parameters**

192 The physicochemical parameters of water were registered using Multiparametric Hanna
193 Instruments® model HI 9828/04-1. The registered parameters were pH, oxide-reduction potential,
194 dissolved oxygen percentage, and maximum and minimum environmental average temperatures.
195 Temperature and humidity was measured and monitored with a thermometer and a hygrometer,
196 model HTC-1. These parameters were recorded at the time of capture of each specimen, considering
197 the maximum and minimum values that were presented within a 24 hours lapse.

198 Canopy. For each sampling site, we selected a point at the center of the stream and four more
199 points that were surrounding it. On each point, the canopy was registered with a densitometer of 40
200 quadrants; 25% was added to each point and an average was obtained for the five selected canopy
201 points (Mao et al., 1997).

202 **Amphibian diversity**

203 In order to estimate the richness and diversity of amphibian species for each sampling site at each
204 year, we recorded all the amphibian species present in a buffer of 50 meters from our sampling site.

205 **Statistical analysis**

206 For the environmental variable analysis, we performed a Redundancy analysis (RDA) using the
207 Biodiversity package (Kindt and Coe, 2005) implemented in R (R Development Core Team 2012)
208 in order to estimate which environmental parameters (biotic and abiotic) had more collinearity and
209 thus discard them. In order to obtain the alpha diversity of each sampling site, we used the Simpson
210 index to know the diversity based on the dominant species, and we calculated the Shannon index
211 based in the equitability of the amphibian species present in the sampling sites.

212 Also, we performed a Canonic correspondence analysis (CCA) using the Vegan package (Wagner
213 2015) implemented in R (R Development Core Team 2009), for estimating which environmental

214 parameters could explained our mite abundance results and the Bd prevalence; in addition to know
215 the relation between mite abundance and Bd prevalence we use a mathematical model reported by
216 Stephens et al., (2009).

217 RESULTS

218 The total number of *T. smithii* that were captured, their sex and morphometric measurements at
219 each location in the table 1.

220 Bd and Rv prevalences

221 All samples that were analyzed for the presence of *Rv* on the tissues resulted negative. As for the
222 detection of the Bd fungus, a prevalence of 4.3% during 2014 was found; whereas for all the
223 individuals studied during 2014 and 2016, the prevalence was 2.3%.

224 Mites (*Hannemania hylae*)

225 The prevalence, abundance and mean intensity of mites and the *Batrachochytrium dendrobatidis*
226 fungus in *T. smithii* during 2014. Mites were observed in just five of the nine sampling sites;
227 whereas the Bd fungi were registered in only three sites (Zarco 2, Colorado 1 and Colorado 3). The
228 highest infestation with mites and Bd was in the Colorado site 3 with a prevalence of 20% for mites
229 and 10% for Bd in the table 2.

230 The prevalence, abundance and intensity average of mites in *T. smithii* during November 2016.
231 Higher levels of infestation by mites were recorded in Zarco 4 with 100% prevalence in the table 3.

232 In order to analyze if the richness and diversity of amphibians on each sampling site were
233 associated to the absence/presence of parasites (mites, fungi and virus), we recorded all the
234 amphibian species that were present in the sampling sites during 2014 (table 4) and 2016 (table 5).

235 Also, we calculated the diversity (Shannon and Simpson) and species richness based on the records
236 of amphibian species of each sampling site during the two periods of time. The results for 2014 are

237 shown in table 6. The sampling site that had the highest values of richness and diversity was
238 Colorado 2; whereas Zarco 3 corresponded to the site with the lowest values.

239 The richness and diversity estimations recorded in 2016 are presented in table 7; where Zarco 1 was
240 the sampling site that had the highest richness value, Zarco 2 had the highest diversity value and
241 Zarco 3 had the lowest estimations.

242 Tables 8 to 11 show all the biotic and abiotic variables included in the Redundancy analysis, which
243 were registered during 2014 and 2016. These tables can be consulted in Appendix I. In addition, we
244 also show the values of all the biotic and abiotic variables included in the Canonical correspondence
245 analysis.

246 We performed a Redundancy analysis in order to discard collinearity and categorized the variables
247 included in the CCA. The results of this analysis are presented in Appendix 4.

248

249 Figure 3

250 Figure 4

251 Figure 5

252 Figure 6

253

254 DISCUSSION

255 *Tlalocohyla smithii* specimens were parasitized by *Hannemania hylae* (Leeuwenhoekidae) during
256 the months of September and November of 2014. This study represents the first report of
257 *Hannemania hylae* in *Tlalocohyla smithii*. Previously, these mites have been reported in the state of
258 Veracruz on the following species: *Hyla arenicolor*, *Pseudacris cadaverina*, *Eleutherodactylus*

259 *guttulatus*, *Lithobates berlandieri*, *Eleutherodactylus* sp., *Eleutherodactylus longipes*, *Lithobates*
260 sp., *Scaphiopus couchii* and *Incilius mazatlanensis*; as well as for the states of Queretaro, where
261 these mites were reported in *Eleutherodactylus longipes* , and Jalisco in *Leptodactylus melanonotus*
262 (Goldberg et al., 2002; Espino del Castillo et al., 2015; Paredes-León et al., 2011; Wagner, 2015;
263 Hoffman, 1969; Loomis and Welbourn, 1969; Hoffmann et al., 2000; Jacinto-Maldonado et al.,
264 2013).

265 *Hannemania hylae* was found on *T. smithii* in the Zarco, Colorado and Hornitos streams. The *H.*
266 *hylae* prevalence was 11%, 9.43% and 6.25%, respectively. It was lower (20-98.9%) than the ones
267 previously reported for another amphibian species. These differences could be attributed to sample
268 size (N=3-256) or host habits. All amphibian species positive to *H. hylae* have been reported in
269 terrestrial species; *T. smithii* is a terrestrial species. In the case of the CCA obtained during 2014,
270 the two first CCA's explained an accumulated portion of 99%, showing that the prevalence and
271 abundance of mites were positive related to the increase of canopy percentage. This might be due to
272 the fact that the canopy is creating a microenvironment (temperature, humidity, etc) which is
273 preferred by mites, or maybe because the amphibians prefer zones with higher canopy, where they
274 can be safe from their predators and be protected of the sun (Welsh and Ollivier 1998).

275 The Bd prevalence in the CCA during 2014 was inversely proportional to the depth of the stream
276 and the maximum recorded environmental temperature. This may be due to the environmental
277 gradient required by Bd for its survival, which has been recorded from 17 to 25°C with a
278 precipitation between 1500 to 2500 mm. In addition, the quantity of water or humidity along with
279 the temperature, could cause the presence or absence of Bd.

280 Murrieta-Galindo et al. (2014) mentioned that the amount of water and/or the moist in the
281 environment on the sites may have an influence on the presence of Bd.

282 The mean intensity of mites was positive related to the size of the stream, suggesting that those
283 places are preferred by mites and amphibians, resulting in higher infections on their hosts. Other
284 possibility to be consider in order to explain this could be that the soil closer to the streams provides
285 favorable conditions for the development of mites (Welsh & Ollivier, 1998).

286 Mean intensity of mites was positively related to the size of the stream, suggesting that a
287 microhabitat with a higher level of moist is preferred by the *Hannemania* mites, causing higher
288 infections on their hosts. Another possibility for explaining this could be that the soils closer to the
289 streams have optimal conditions for the development of mites, mainly for the first stages before
290 they parasite the host. The results of the CCA during the sampling period of 2016 showed that the
291 two CCA's had an explained accumulated portion of 100%; while the prevalence of mites was
292 positively related to the maximum temperature in the sites. This can be explained by the
293 temperature ranges preferred by *Hannemania* mites in order to complete their life cycle, which go
294 from 10 to 30 °C (Hoffmann, 1970). The abundance of mites in the CCA was inversely
295 proportional to the maximum humidity value at the sample site. The CCA results could be
296 explained by the higher temperature ranges that *Hannemania* mites need for surviving (Hoffmann,
297 1970); namely, a lower abundance of mites in the study sites with the highest registered humidity.
298 On the other hand, the mean intensity of mites was inversely proportional to the minimal recorded
299 humidity; that is, the lower the registered humidity, the greater the number of mites infecting the
300 amphibians. This could be explained and related to the environmental requirements that
301 *Hannemania* mites need for completing their life cycle (Hoffmann, 1970).
302 The Bd prevalence results in this research were lower than 2.6%, in comparison to the study
303 performed by Alonso et al., (2010) in the Tehuantepec Isthmus, where he analyzed 77 anuran
304 species from six amphibian families, finding that the Hylidae was the family that registered the
305 highest tendency for being infected. The lower prevalence of Bd in our research, compared to the
306 one of Muñoz-Alonso (2013) (prevalence = 21%), could be explain by the size sample and the

307 sampled sites. Our study was carried out in preserved sites, while the Muñoz-Alonso's samples
308 were obtained in disturbed areas. Another possibility for explaining this difference could be
309 attributed to environmental conditions, such as vegetation and altitude; our study was performed
310 under tropical conditions of deciduous forests with an altitude range of 10-580 masl range; whereas
311 the study of Muñoz-Alonso (2013) was done in 17 different types of vegetation with an altitude
312 range of 0-4,100 masl.

313 The presence of *Ranavirus* has been reported in all continents. There are reports of this disease in
314 the Americas with exception of some countries including Mexico (Gray et al., 2015). Because of the
315 contact between species and international trade, there are high chances that the disease is also
316 present in Mexico. However, results regarding virus prevalence in this research were negative;
317 however, our study was focused on a single amphibian species within a preserved area, in
318 comparison with other studies which studied multiple species (Hoverman et al., 2011, Schock et al.,
319 2008). Therefore, we recommend conducting further studies considering both preserved and
320 perturbed areas and to analyze different amphibian species with different stages of development.
321 Studies should also be conducted, in different provinces at local and regional scale, including
322 different diagnostic techniques. Also, to incorporate studies about the influence of biotic and abiotic
323 parameters.

324 Here, we report for the first time the presence of *H. hylae* and Bd infesting *T. smithii* at the Chamela
325 station in the state of Jalisco, Mexico.

326 As for the *Ranavirus* found in *T. smithii*, our research corresponds to the first study registering its
327 absence in Mexico. In this research, we do not found any relationship between the presence of the
328 mites and the Bd or Rv; however, we suggest to carry out a major research that includes other
329 species of parasites and hosts in order to be able to understand the interaction dynamics between
330 parasite species and their hosts. This information will be useful for proposing different management

331 and conservation programs for amphibians, with special attention on the endemic species of
332 Mexico.

333 ACKNOWLEDGMENTS

334 We appreciate funding granted by the Scott Neotropical Fund (Cleveland Metroparks Zoo and
335 Cleveland Zoological Society) to achieve this research, as well as CONACyT (Consejo Nacional de
336 Ciencia y Tecnología) CVU 421971 which allowed me to pursue my doctoral studies, the
337 Postgraduate Studies Support Program/Programa de apoyo a los estudios de posgrado (PAEP) and
338 the Doctoral Program in Science Production and Animal Health of the FMVZ, UNAM for the
339 grants and financial support. In particular, we want to thank the Disease Ecology Group from
340 FMVZ, UNAM; the Biology team of the National Collection of Mites Institute (CNAC), the
341 Laboratory of Agricultural and Animal Production of UAM-X, the Virology laboratory team from
342 FMVZ, UNAM. We are grateful to the people who collected amphibians in particular to Griselda
343 Montiel, Daniel Hernández, Nayelli Ruiz, Gerardo Contreras and Jorge Toledo, and all those who
344 supported and enriched this work, especially Daniel Miranda, André Rubio and Epifanio Tapia.

345

346

347

348

349

350

351

352

353

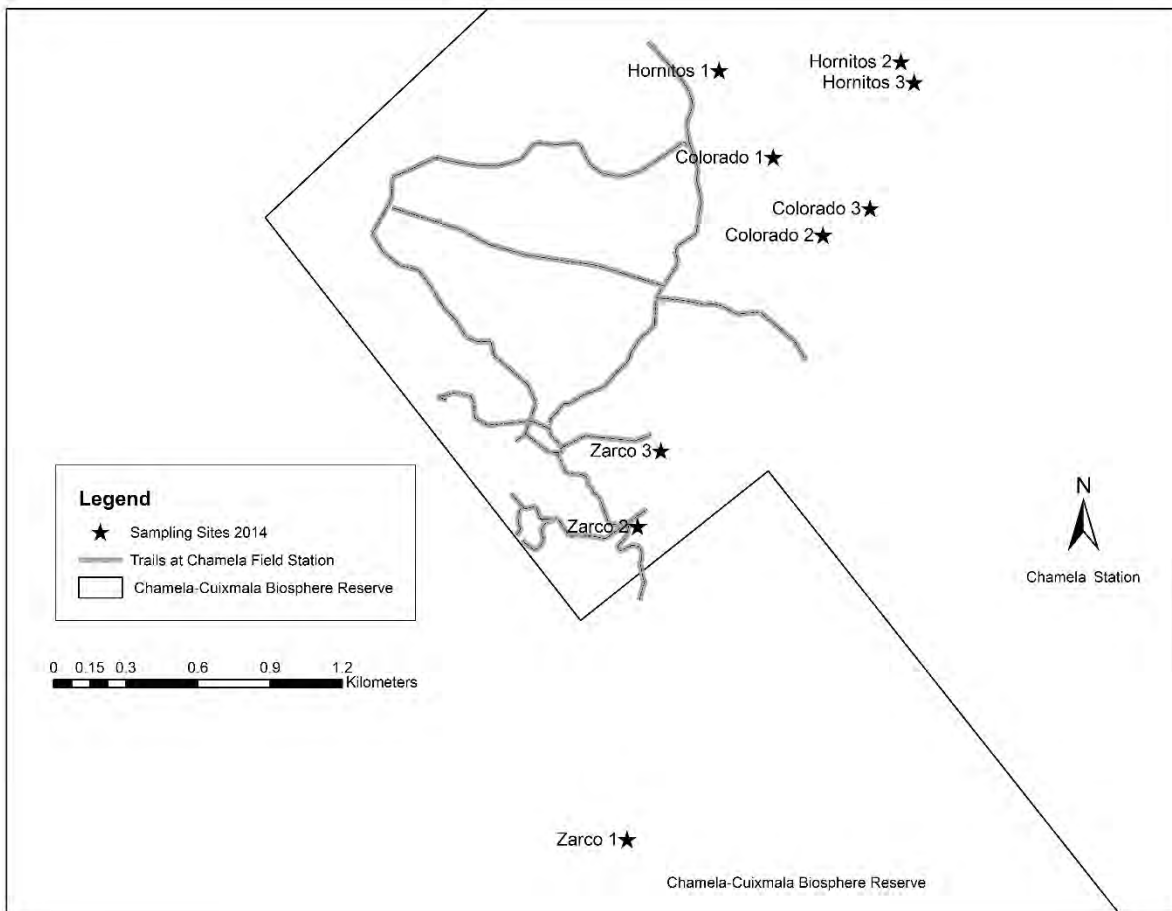
354

355

356

357 APPENDIX I

358 Figures



359

360 FIGURE 1. Study area showing the sampled sites during the period of November, 2014.

361

362

363

364

365

366

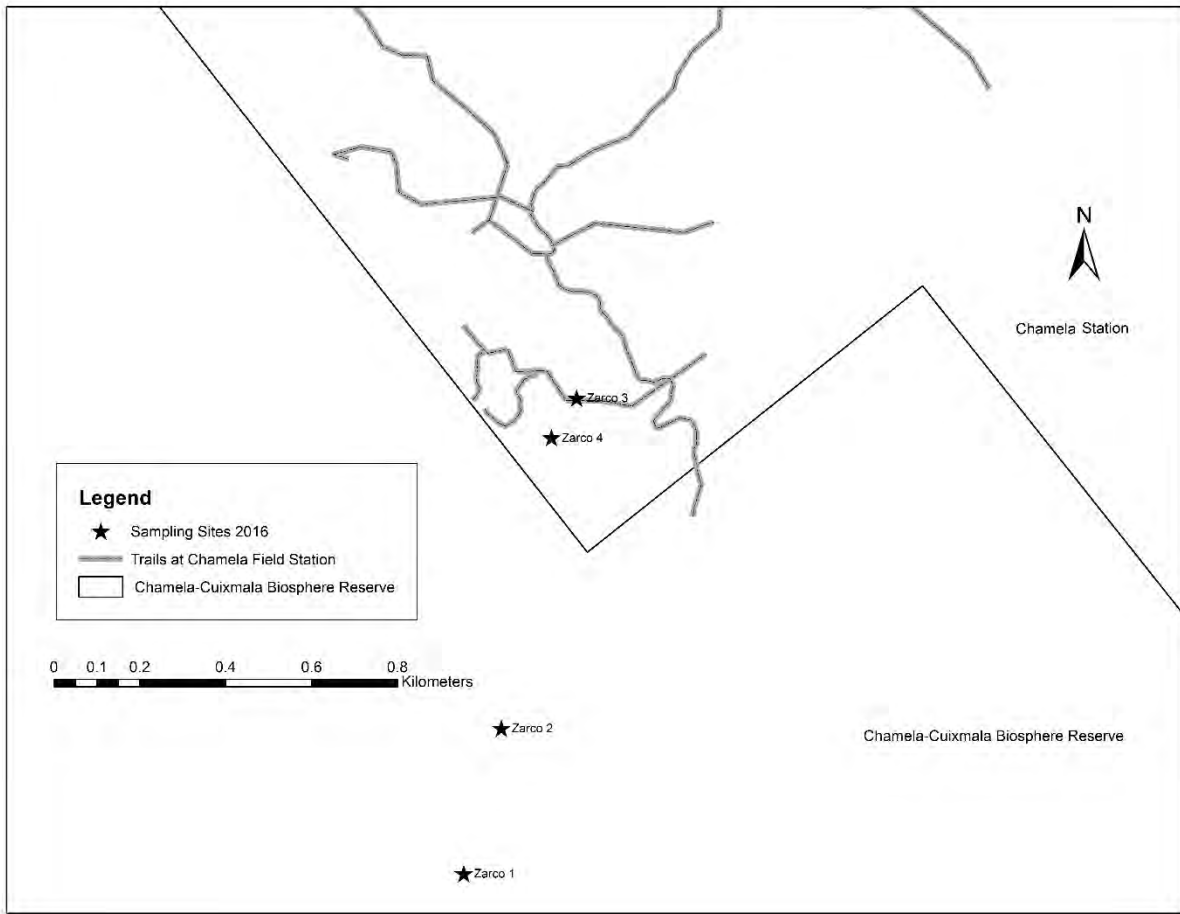
367

368

369

370

371

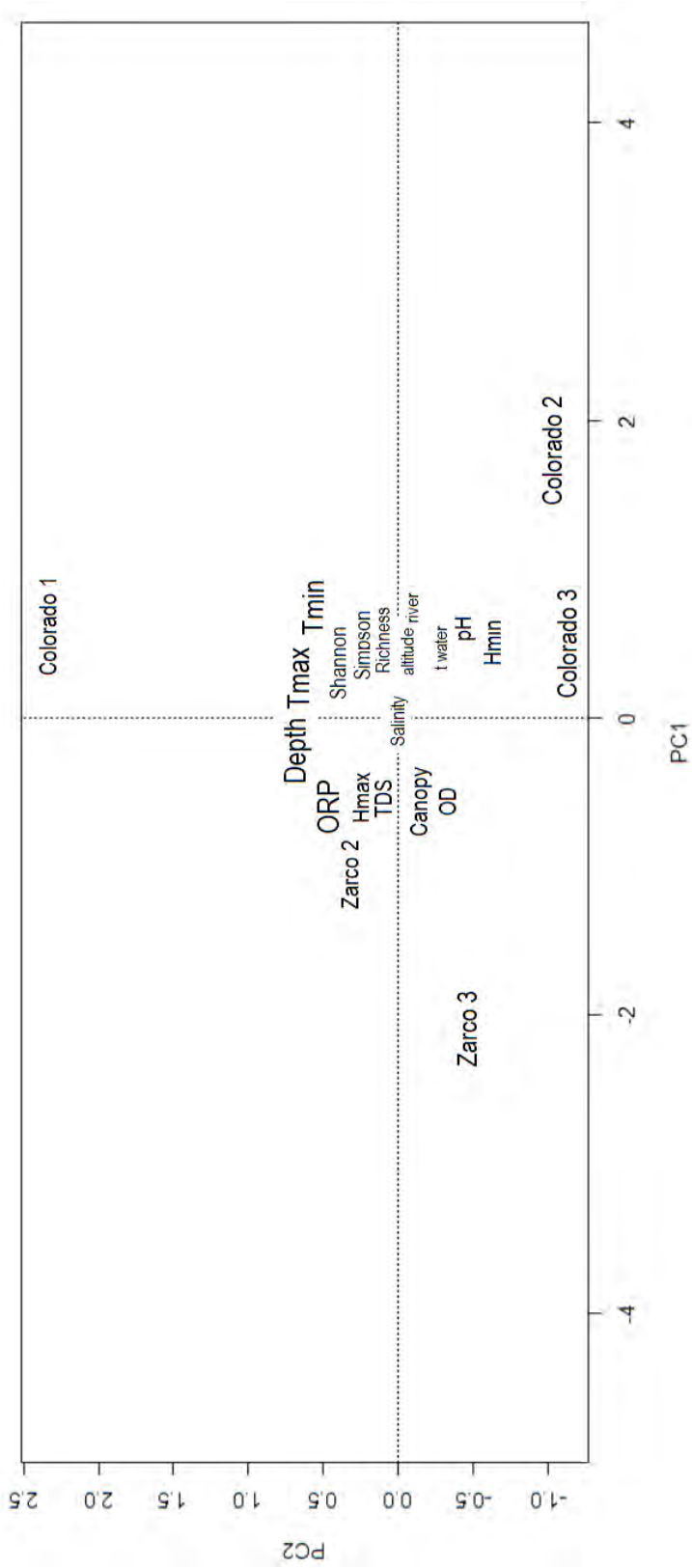


372

373 FIGURE 2. Study area showing the sampled sites during the period of November, 2016.

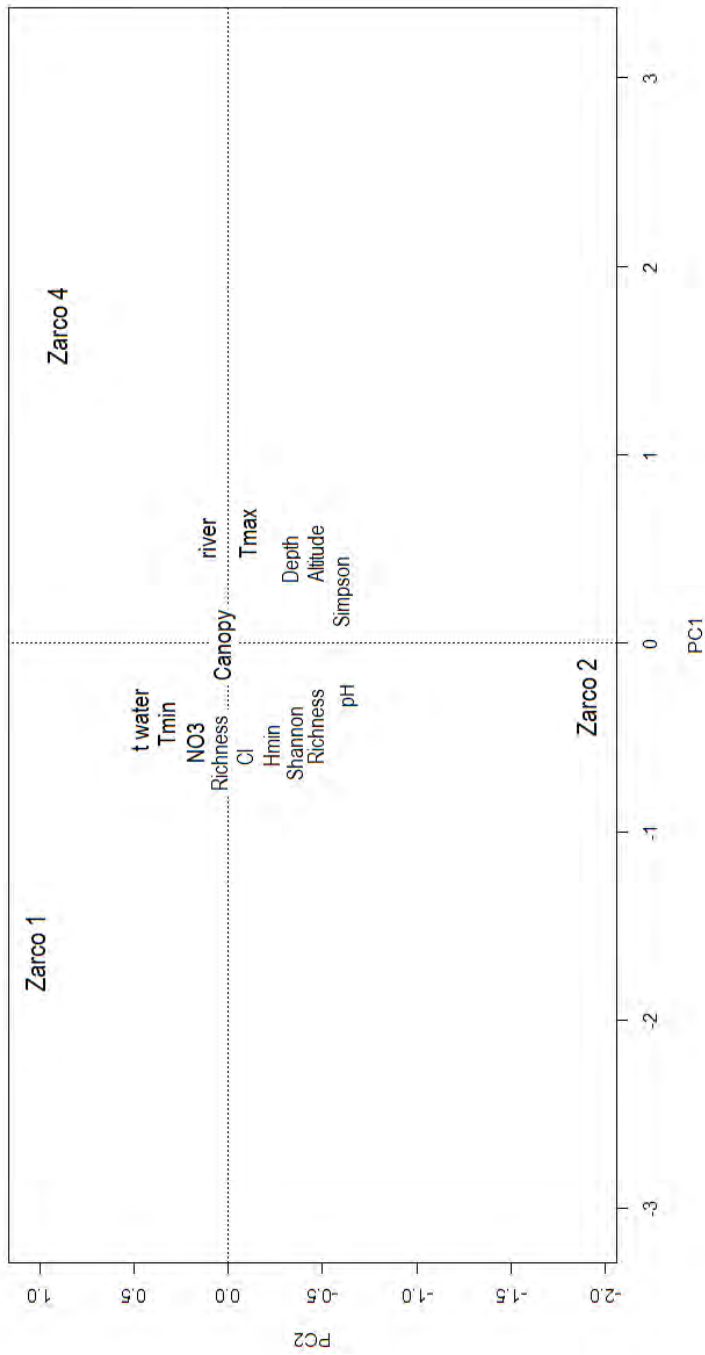
374

375



376

377 FIGURE 3. Redundancy analysis of all environmental variables recorded in November of 2014.

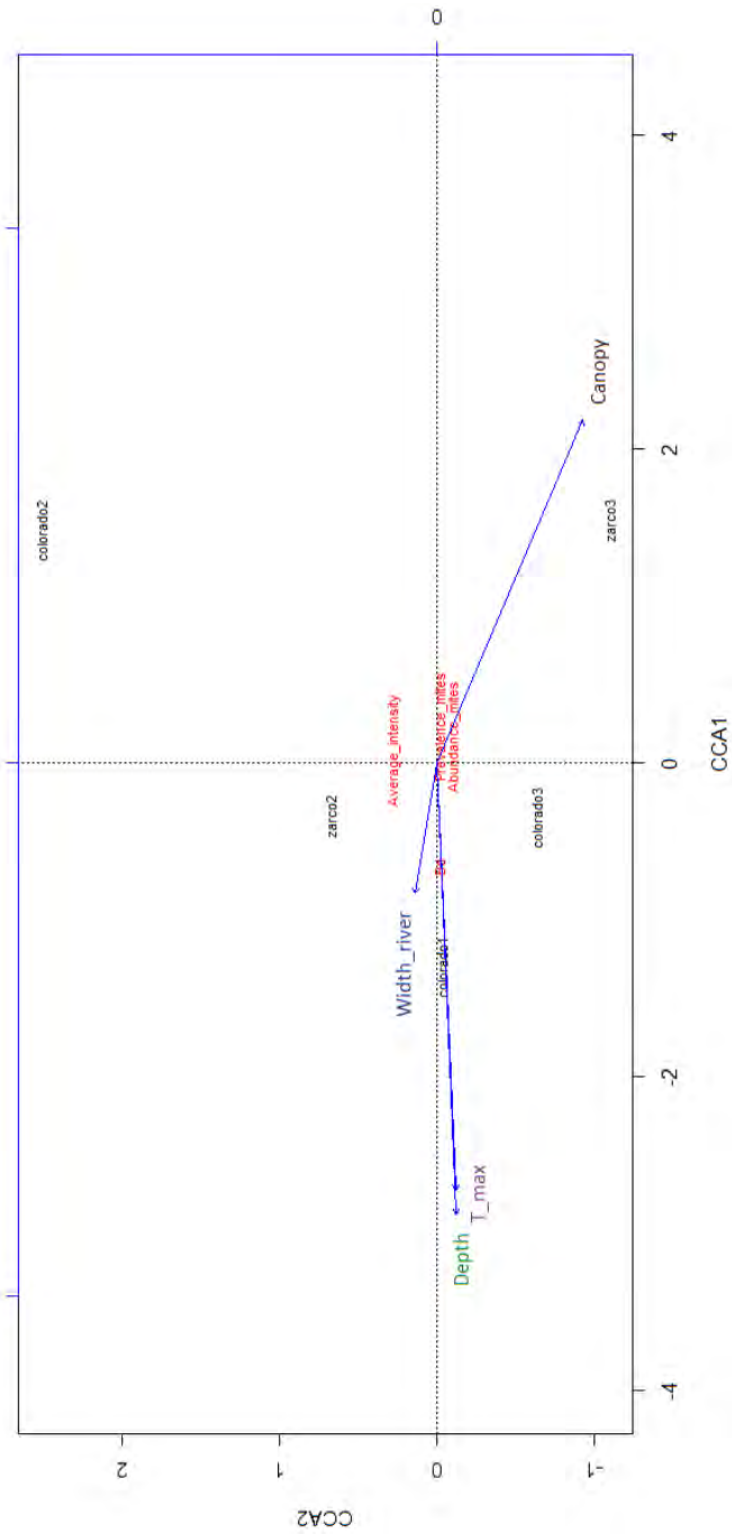


379

380

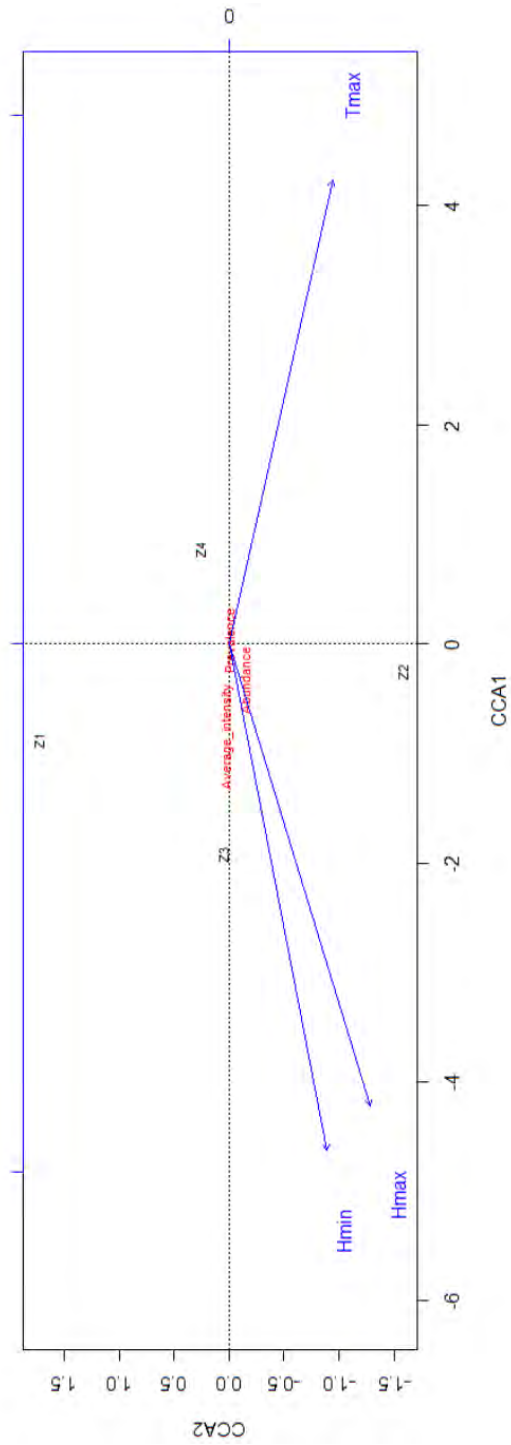
381 FIGURE 4. Redundancy analysis of all environmental variables recorded in November of 2016.

382



383

384 FIGURE 5. Analysis of canonical correspondence of the parasites for 2014, showing the biotic and
 385 abiotic variables.



387

388 FIGURE 6. Analysis of canonical correspondence of the parasites for 2016, showing the biotic and
389 abiotic variables.

390 **APPENDIX 2**

391 External Extraction Control (CEE)

392 In order to confirm that the extractions were correctly performed, an external extraction control
393 (CEE) was applied; it consisted in adding a type 1 Bovine Herpes virus DNA (HVB-1) with F-
394 GCTAGCCATGCCCTTAGTAGGACTAGC and R-AACTCCATGTGCCAT GTACAGCAGAG
395 primers, for amplifying a 159 bp fragment. The primer concentrations were 0.6 μ M. The virus was
396 amplified to validate the extraction method with a PCR Master Mix kit (2X), using the following
397 conditions: An initial denaturalization at 94°C for 2 min; 35 cycles at 94°C for 30 seconds, an
398 alignment at 55°C for 30 seconds, an extension at 70°C for 90 seconds, and a final extension at
399 72°C for 2 min. The obtained product was visualized in a 2% agarose gel dyed with ethidium
400 bromide.

401 **APPENDIX 3**

402 Internal amplification control (IAC) consisted in the use of the pUC4K plasmid as a DNA template
403 in PCR with the following primers: FV3-Kan Forward 5'
404 GTCGGAGAAGAAGAAAATGAGCCATATTCAACGGG 3' and Reverse 5'
405 GACTTGGCCACTTATGACTTAGAAAACTCATCGAGCATC3', where an 850 bp product
406 was amplified. The primers' concentration was of 20 nM. A Master Mix (2X) kit was used for the
407 PCR. PCR conditions were: an initial denaturalization of 94°C for 5 min.; 5 cycles at 94°C for 1
408 min, an alignment at 52°C for 1 min, and an extension at 72°C for 1 min, followed by 30 cycles of
409 denaturalization at 94°C for 1 min, an alignment of 60°C for 1.5 min, and an extension of 72°C for
410 1.5 min. Finally, an extension at 72°C for 5 min was performed. This IAC was visualized and
411 purified with 0.8% agarose gel dyed with ethidium bromide.

412

413

414 **APPENDIX 4**

415 RDA Results 2014

416 Importance of components:

417	RD1	RD2	RD3	RD4
418 Eigenvalue	8.7652	3.7008	3.1082	1.42576
419 Proportion Explained	0.5156	0.2177	0.1828	0.08387
420 Cumulative Proportion	0.5156	0.7333	0.9161	1.00000

421 Species scores

422	RD1	RD2	RD3	RD4
423 Tmax	0.132379	0.642177	0.23483	0.003337
424 Tmin	0.477821	0.466942	-0.15719	0.118378
425 Hmax	-0.394356	0.243251	0.50833	0.109455
426 Hmin	0.514385	-0.468216	-0.00706	0.034685
427 canopy	-0.629354	-0.057113	-0.26950	0.114412
428 width-river	0.580585	-0.020363	0.23629	0.302890
429 depth-river	-0.005042	0.649340	0.20972	-0.139363
430 altitude	0.451695	0.002405	-0.36708	0.382481
431 temp-water	0.438353	-0.156359	0.21620	-0.470878
432 pH	0.577938	-0.270822	-0.25932	-0.102300
433 ORP	-0.582131	0.298214	-0.22318	-0.086336
434 OD	-0.565026	-0.136380	-0.22952	-0.307466
435 uS	-0.570613	0.083446	-0.38648	0.056063
436 TDS	-0.570544	0.094577	-0.38080	0.074797
437 Salinity	0.000000	0.000000	0.00000	0.000000
438 Shannon	0.523627	0.309393	-0.32990	-0.079560
439 Simpson	0.499344	0.324811	-0.34511	-0.105457
440 Richness	0.538192	0.196376	-0.35126	-0.182955

441 RDA Results 2016

442 Importance of components:

443		PC1	PC2	
444	Eigenvalue	11.6288	4.3712	
445	Proportion Explained	0.7268	0.2732	
446	Cumulative Proportion	0.7268	1.0000	
447	Species scores			
448		PC1	PC2	
449	Tmax	0.5898	-0.07530	
450	Tmin	-0.5092	0.30695	
451	Hmax	-0.5302	-0.26910	
452	Hmin	-0.5491	-0.22822	
453	canopy	0.0000	0.00000	
454	width-river	0.5841	0.11114	
455	depth-river	0.4362	-0.40413	
456	altitude	0.4023	-0.43780	
457	temp-water	-0.4096	0.43101	
458	pH	-0.4310	-0.40961	
459	NO3	-0.5526	0.21953	
460	Hardwater	-0.5277	-0.27400	
461	Cl	-0.5936	-0.03379	
462	Alka	-0.5277	-0.27400	
463	Shannon	-0.5277	-0.27400	
464	Simpson	0.1693	-0.56998	
465	Richness	-0.5940	0.02656	
466	CCA Results 2014			
467	Accumulated constrained eigenvalues			
468	Importance of components:			
469		CCA1	CCA2	CCA3
470	Eigenvalue	0.1484	0.004888	0.0002074
471	Proportion Explained	0.9668	0.031850	0.0013500
472	Cumulative Proportion	0.9668	0.998650	1.0000000
473				
474	Species scores			

475

476		CCA1	CCA2	CCA3
477	Prevalence_mites	0.23679	-0.01860	-0.0021048
478	Abundance_mites	0.16514	-0.10159	0.1625699
479	Average_intensity	0.07593	0.27866	0.0060032
480	Bd	-0.65775	-0.01131	-0.0006418

481
 482 CCA Results 2016
 483
 484 Cumulated constrained eigenvalues
 485 Importance of components:

486		CCA1	CCA2
487	Eigenvalue	0.02856	0.0002839
488	Proportion Explained	0.99016	0.0098400
489	Cumulative Proportion	0.99016	1.0000000

490
 491 Species scores

492		CCA1	CCA2
493		CCA1	CCA2
494	Prevalence_mites	0.03709	0.001199
495	Abundance_mites	-0.33171	-0.134772
496	Average_intensitymites	-0.84379	0.022755

497
 498 **TABLES**

499 The table 1 *T.smithii* individuals, sampling November 2014 and 2016, N (total number of
 500 captured anurans), UD (sex undetermined), weight and the measures morpho metrics.

<i>Tlalocohyla smithii</i>							
Month	Year	N	Females	Males	UD	Weight Average (range)	Total length Average (range)
November	2014	69	1	68	0	0.75 (0.6-1.1)	5.68 (2.5-6.3)
November	2016	47	1	26	20	0.73 (0.5-1)	2.33 (2.11-2.66)

501
 502

503 The table 2 shows the prevalence, abundance and average of intensity of mites and the
 504 fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* in *T. smithii* registered in nine sample sites into
 505 three streams, during November 2014 (number of individuals captured).

Tlalocohyla smithii

Stream	Point	Coordinates	N	N Total per stream	<i>Hannemania hylae</i>	<i>Batrachochytrium dendrobatidis</i>
					Prevalence % (Abundance±Standard deviation) (Average intensity±Standard deviation)	Prevalence % (Abundance±Standard deviation) (Average intensity±Standard deviation)
Zarco	1	19° 29' 4.8" N, 105° 02' 22.5" W	11		0	0
Zarco	2	19° 29' 47" N, 105° 02' 21" W	11		18.18% (0.18±0.4) (2±0)	9.09% (0.09±0.3)(1±0)
Zarco	3	19° 29' 57.2" N, 105° 02' 17.7" W	10	32	20% (0.2±0.42) (1±0)	0
Colorado	1	19° 30' 36.8" N, 105° 02' 01.7" W	11		9.09% (0.09±0.3) (1±0)	9.09% (0.09±0.3)(1±0)
Colorado	2	19° 30' 26.3" N, 105° 01' 54.6" W	12		8.33% (0.08±0.28) (1±0)	0
Colorado	3	19° 30' 29.9" N, 105° 01' 47.9" W	10	33	20% (0.3±0.67) (1.5±0.7)	10% (0.1±0.31) (1±0)
Hornitos	1	19° 30' 48.5" N, 105° 02' 09.4" W	4		0	0
Hornitos	2	19° 30' 49.7" N, 105° 01' 43.5" W	0		0	0
Hornitos	3	19° 30' 46.9" N, 105° 01' 41.6" W	0	4	0	0

506

507

508 The table 3 shows the prevalence, abundance and average of intensity of mites in *T. smithii*

509 registered in three streams, during November 2016 (number of individuals captured).

Tlalocohyla smithii

Stream	Point	Coordinates	N	<i>Hannemania hylae</i>
				Prevalence % (Abundance±Standard deviation) (Average intensity±Standard deviation)
Zarco	1	19° 29' 10" N 105° 02' 39" W	25	24% (0.4±0.87) (1.67±1.03)
Zarco	2	19° 29' 21" N 105° 02' 36" W	9	44.44% (0.89±1.27) (2±1.15)
Zarco	3	19° 29' 46" N 105° 02' 30" W	12	25% (0.67±1.5) (2.67±2.08)
Zarco	4	19° 29' 43" N 105° 02' 32" W	1	100% (1±0) (1±0)

510

511

512 Table 4. Abundancia de las especies de anfibios registrada en cada sitio de muestreo

513 durante el año 2014.

Sampling sites 2014

Amphibian specie	Zarco 1	Zarco 2	Zarco 3	Colorado 1	Colorado 2	Colorado 3	Hornitos 1	Hornitos 2	Hornitos 3
<i>Hypopachus ustus</i>	7	13	5	3	22	5	1	1	6
<i>Incilius marmoratus</i>	11	3	1	3	20	1	8	4	2
<i>Craugastor occidentalis</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Hypopachus variolosus</i>	43	1	0	4	16	2	5	6	5
<i>Smilisca fodiens</i>	0	0	0	1	17	0	0	1	0
<i>Exerodonta smaragdina</i>	22	1	0	8	1	0	3	11	0
<i>Smilisca baudinii</i>	29	7	0	2	10	0	0	0	2
<i>Tlalocohyla smithii</i>	5	35	24	2	37	28	0	3	0
<i>Trachycephalus typhonius</i>	0	0	0	1	5	0	0	0	0
<i>Diaglena spatulata</i>	0	0	0	0	3	1	0	3	0
<i>Agalychnis dacnicolor</i>	28	10	0	0	30	0	0	0	2
<i>Lithobates forreri</i>	3	3	0	0	2	0	0	0	1
<i>Craugastor hobartsmithi</i>	0	1	0	0	0	0	0	1	0

514

515 Table 5. Abundancia de las especies de anfibios registrada en cada sitio de muestreo

516 durante el año 2016.

Sampling sites 2016

Amphibian specie	Zarco 1	Zarco 2	Zarco 3	Zarco 4
<i>Hypopachus ustus</i>	3	4	0	0
<i>Incilius marmoreus</i>	3	1	0	1
<i>Smilisca fodiens</i>	1	0	0	0
<i>Exerodonta smaragdina</i>	3	0	3	0
<i>Smilisca baudinii</i>	4	0	0	0
<i>Tlalocohyla smithii</i>	27	14	0	0
<i>Lithobates forreri</i>	1	4	0	2
<i>Incilius mazatlanensis</i>	1	4	0	0
<i>Agalychnis callidryas</i>	1	0	0	0
<i>Eleutherodactylus nitidus</i>	0	1	0	0
<i>Rhinella marina</i>	0	0	0	1

517

518 Table 6. Diversity (Shannon y Simpson) and estimated richness in each sampled site during

519 2014.

Sample sites	Diversity indices		Richness
	Shannon	Simpson	S
Z1	1.808	0.810	8
Z2	1.588	0.714	9
Z3	0.591	0.331	3
C1	1.957	0.826	9
C2	2.076	0.856	11
C3	0.834	0.405	5
H1	1.187	0.657	4
H2	1.759	0.784	8
H3	1.615	0.772	6

520

521 Table 7. Diversity (Shannon y Simpson) and estimated richness in each sampled site in

522 2016.

Sample sites	Diversity indices		Richness
	Shannon	Simpson	S
Z1	1.41	0.60	9
Z2	1.42	0.69	6
Z3	0.00	0.00	1
Z4	1.04	0.63	3

525

526

527 Table 8. Abiotic variables registered in 2014.

Site	Tmax	Tmin	Hmax	Hmin	canopy	width_river	depth	altitude	t	pH	ORP	OD	uS	TDS	Salinity
zarco1	27.9	20.4	97	51	66.57	5.32	38.4	63	24.53	9.34	-257.5	82.8	139	70	0.06
zarco2	27.9	20.4	97	51	75.37	4.05	32.1	38	24.49	8.01	-178.6	84.1	130	65	0.06
zarco3	27.3	20.1	99	47	92.69	4.89	27	48	23.95	7.615	-173.2	78.1	135	68	0.06
colorado1	30.1	21.1	99	47	62.29	7.89	39.74	60	24.27	7.82	-196.6	44.3	124	62	0.06
colorado2	27.2	20.8	95	77	61.86	8.6	24	85	24.42	8.51	-233.3	47.8	122.5	61	0.06
colorado3	27.9	20.2	99	67	58.67	7.95	29.2	37	24.61	7.98	-231.05	54	118	58.5	0.06
hornitos1	35.05	19.65	98	52.5	33.67	6.36	22.8	27	24.32	8.645	-223.25	48.65	219	109.5	0.1
hornitos2	39.8	19.45	99	35	81.68	6.7	29.4	31	24.08	9.375	-270.9	53.25	218	109	0.1
hornitos3	28.2	19.4	99	93	82.16	7.9	26.8	33	24.1	7.5	-186.2	53.9	213.7	106.7	0.1

529 Table 9. Abiotic variables registered in 2016.

Location	Tmax	Tmin	Hmax	Hmin	canopy	river	depth	altitude	t	pH	NO3	Hardw	Cl	Alka	Shannon	Simpson	Richness
Z1	33.5	22.4	99	42	0	1.32	5.2	80	27	7.2	200	180	6.8	180	1.41	0.59	9
Z2	37.1	19.1	98.5	39	0	2.67	20	95	25	7.4	40	180	4	180	1.41	0.68	6
Z3	35.5	19.5	99	52	0	1.5	51	94	25.5	6.9	0	50	0	50	0	0	1
Z4	39.8	19	52	10	0	5.9	17.2	91	25.5	6.7	0	40	0	40	1.039	0.62	3

531

532 Table 10. Biotic and abiotic variables registered in 2014 included in the Redundancy analysis

Location	Tmax	Tmin	Hmax	Hmin	canopy	width_river	depth	altitude	t_water	pH	ORP	OD	uS	TDS	Salinity	Shannon	Simpson	Richness
zarco2	27.9	20.4	97	51	75.37	4.05	32.1	38	24.49	8.01	-178.6	84.1	130	65	0.06	1.5876	0.714	9
zarco3	27.3	20.1	99	47	92.69	4.89	27	48	23.95	7.615	-173.2	78.1	135	68	0.06	0.5905	0.331	3
colorado1	30.1	21.1	99	47	62.29	7.89	39.74	60	24.27	7.82	-196.6	44.3	124	62	0.06	1.9571	0.826	9
colorado2	27.2	20.8	95	77	61.86	8.6	24	85	24.42	8.51	-233.3	47.8	122.5	61	0.06	2.0763	0.856	11
colorado3	27.9	20.2	99	67	58.67	7.95	29.2	37	24.61	7.98	-231.05	54	118	58.5	0.06	0.8343	0.405	5

533

534 Table 11. Biotic and abiotic variables registered in 2016 included in the Redundancy analysis

Location	Tmax	Tmin	Hmax	Hmin	canopy	width_river	depth	altitude	t_water	pH	NO3	Hardwater	Cl	Alkalinity	Shannon	Simpson	Richness
Z1	33.5	22.4	99	42	0	1.32	5.2	256	27	7.2	200	180	6.8	180	1.41	0.59	9
Z2	37.1	19.1	98.5	39	0	2.67	20	320	25	7.4	40	180	4	180	1.41	0.68	6
Z4	39.8	19	52	10	0	5.9	17.2	303	25.5	6.7	0	40	0	40	1.039	0.62	3

536

REFERENCES

- 537 Alonso, Luís Antonio Muñoz. (2010). Riqueza, diversidad y estatus de los anfibios amenazados en
538 el sureste de México; una evaluación para determinar las posibles causas de la declinación
539 de sus poblaciones.
- 540 Annis, Seanna L, Dastoor, Farahad P, Ziel, Heather, Daszak, Peter, & Longcore, Joyce E. (2004). A
541 DNA-based assay identifies *Batrachochytrium dendrobatidis* in amphibians. *Journal of*
542 *Wildlife Diseases*, 40(3), 420-428.
- 543 Ariel, Ellen, Nicolajsen, Nicole, Christophersen, Maj-Britt, Holopainen, Riikka, Tapiovaara, Hannele,
544 & Jensen, Britt Bang. (2009). Propagation and isolation of ranaviruses in cell culture.
545 *Aquaculture*, 294(3-4), 159-164.
- 546 Boulenger, G. A. (1902.). Reptilia and Batrachia (1901). *Zoological Record* 38: 1–35.
- 547 Boyle, DG, Boyle, DB, Olsen, V, Morgan, JAT, & Hyatt, AD. (2004). Rapid quantitative detection of
548 chytridiomycosis (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in amphibian samples using real-time
549 Taqman PCR assay. *Diseases of Aquatic Organisms*, 60(2), 141-148.
- 550 Brand, Mabre D, Hill, Rachel D, Brenes, Roberto, Chaney, Jordan C, Wilkes, Rebecca P, Grayfer,
551 Leon, Gray, Matthew J. (2016). Water temperature affects susceptibility to Ranavirus.
552 *EcoHealth*, 13(2), 350-359.
- 553 Brennan, James M, & Goff, M Lee. (1977). Keys to the genera of chiggers of the Western
554 Hemisphere (Acarina: Trombiculidae). *The Journal of Parasitology*, 554-566.

555 Brunner, Jesse L, Storfer, Andrew, Gray, Matthew J, & Hoverman, Jason T. (2015). Ranavirus
556 ecology and evolution: from epidemiology to extinction *Ranaviruses* (pp. 71-104):
557 Springer.

558 Bush, Albert O, Lafferty, Kevin D, Lotz, Jeffrey M, & Shostak, Allen W. (1997). Parasitology meets
559 ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *The Journal of Parasitology*, 575-583.

560 Campos, M. L. G. (2014). Monitoreo del estado de salud de una población de *Ambystoma*
561 *mexicanum*. Thesis: Universidad Autónoma de Metropolitana, 80.

562 Ceballos, Gerardo, & Garcia, Andres. (1995). Conserving neotropical biodiversity: the role of dry
563 forests in western Mexico. *Conservation Biology*, 9(6), 1349-1356.

564 Duffus, Amanda LJ, Waltzek, Thomas B, Stöhr, Anke C, Allender, Matthew C, Gotesman, Michael,
565 Whittington, Richard J, Marschang, Rachel E. (2015). Distribution and host range of
566 ranaviruses *Ranaviruses* (pp. 9-57): Springer.

567 Espino del Castillo, Adriana, Paredes-León, Ricardo, & Morales-Malacara, Juan B. (2011). Presence
568 of intradermal chigger mite *Hannemania hylae* (Ewing, 1925)(Acari: Leeuwenhoekiidae) in
569 the troglophile frog *Eleutherodactylus longipes* (Anura: Brachycephalidae) at Los Riscos
570 cave, Queretaro, México. *International Journal of Acarology*, 37(5), 427-440.

571 Faivovich, Julián, Haddad, Celio FB, Garcia, Paulo CA, Frost, Darrel R, Campbell, Jonathan A, &
572 Wheeler, Ward C. (2005). Systematic review of the frog family Hylidae, with special
573 reference to Hylinae: phylogenetic analysis and taxonomic revision. *Bulletin of the*
574 *American Museum of natural History*, 1-240.

575 Frainer, André, McKie, Brendan G, Amundsen, Per-Arne, Knudsen, Rune, & Lafferty, Kevin D.
576 (2018). Parasitism and the Biodiversity-Functioning Relationship. *Trends in ecology &*
577 *evolution*.

578 Gaston, Kevin J. (1998). Species-range size distributions: products of speciation, extinction and
579 transformation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*,
580 353(1366), 219-230.

581 Gervasi, Stephanie S, Stephens, Patrick R, Hua, Jessica, Searle, Catherine L, Xie, Gisselle Yang,
582 Urbina, Jenny, Hammond, John I. (2017). Linking ecology and epidemiology to understand
583 predictors of multi-host responses to an emerging pathogen, the amphibian chytrid
584 fungus. *PLoS One*, 12(1), e0167882.

585 Goldberg, SR, Wrenn, WJ, & Bursley, CR. (2002). *Bufo mazatlanensis* (Sinaloa toad), *Rana*
586 *tarahumarae* (Tarahumara frog). Ectoparasites. *Herpetological Review*, 33(4), 301-302.

587 Grant, Emily C, Philipp, David P, Inendino, Kate R, & Goldberg, Tony L. (2003). Effects of
588 temperature on the susceptibility of largemouth bass to largemouth bass virus. *Journal of*
589 *Aquatic Animal Health*, 15(3), 215-220.

590 Gray, Matthew J, Miller, Debra L, & Hoverman, Jason T. (2009). Ecology and pathology of
591 amphibian ranaviruses. *Diseases of Aquatic Organisms*, 87(3), 243-266.

592 Gray, Matthew J, Miller, Debra L, Schmutzer, A Chandler, & Baldwin, Charles A. (2007). Frog virus 3
593 prevalence in tadpole populations inhabiting cattle-access and non-access wetlands in
594 Tennessee, USA. *Diseases of Aquatic Organisms*, 77(2), 97-103.

595 Greer, Amy L, Briggs, Cheryl J, & Collins, James P. (2008). Testing a key assumption of
596 host-pathogen theory: density and disease transmission. *Oikos*, 117(11), 1667-1673.

597 Hoffmann, A. (1970). *Estudio monográfico de los trombicúlidos de México (Acarida:*
598 *Trombiculidae)*. Paper presented at the Anales de la Escuela Nacional de Ciencias
599 Biológicas.

600 Hoffmann, Anita. (1969). Ácaros parásitos de bratracios y reptiles en México.

601 Hoffmann, Anita, & López Campos, Guadalupe. (2000). *Biodiversidad de los ácaros en México*
602 (9709000144). Retrieved from

603 Hoverman, Jason T, Gray, Matthew J, Haislip, Nathan A, & Miller, Debra L. (2011). Phylogeny, life
604 history, and ecology contribute to differences in amphibian susceptibility to ranaviruses.
605 *EcoHealth*, 8(3), 301-319.

606 Hoverman, Jason T, Gray, Matthew J, Miller, Debra L, & Haislip, Nathan A. (2012). Widespread
607 occurrence of ranavirus in pond-breeding amphibian populations. *EcoHealth*, 9(1), 36-48.

608 IUCN. (2017). "The IUCN Red List of Threatened Species." IUCN 2017. The IUCN Red List of
609 Threatened Species. Version 2017-2011. <<http://www.iucnredlist.org>>. Downloaded on
610 2012 May 2017.

611 Jacinto-Maldonado, R., Paredes-León, G., Salgado-Maldonado, A., García, & G., Suzán. (2013).
612 *Leptodactylus melanonotus* (Sabinal Frog), endoparasitism. *Herpetological Review. Natural*
613 *history notes*, 44(4), 294.

614 Johnson, JD, Wilson, LD, Mata-Silva, V, García-Padilla, E, & DeSantis, DL. (2017). The endemic
615 herpetofauna of Mexico: organisms of global significance in severe peril. *Mesoamerican*
616 *Herpetology*, 4(3), 544-620.

617 Keesing, Felicia, Belden, Lisa K, Daszak, Peter, Dobson, Andrew, Harvell, C Drew, Holt, Robert D,
618 Mitchell, Charles E. (2010). Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of
619 infectious diseases. *Nature*, 468(7324), 647.

620 Kindt, Roeland, & Coe, Richard. (2005). Tree diversity analysis. *A manual and software for common*
621 *statistical methods for ecological and biodiversity studies*. World Agroforestry Centre
622 (ICRAF), Nairobi, 196.

623 Koprivnikar, Janet, Marcogliese, David J, Rohr, Jason R, Orlofske, Sarah A, Raffel, Thomas R, &
624 Johnson, Pieter TJ. (2012). Macroparasite infections of amphibians: what can they tell us?
625 *EcoHealth*, 9(3), 342-360.

626 Loomis, Richard B, & Welbourn Jr, WC. (1969). A new species of *Hannemania* (Acarina,
627 Trombiculidae) from *Bufo punctatus* of western North America, with comments on
628 *Hannemania hylae* (Ewing). *Bulletin of the Southern California Academy of Sciences*, 68(3),
629 161-169.

630 Mao, Jinghe, Hedrick, RP, & Chinchar, VG. (1997). Molecular characterization, sequence analysis,
631 and taxonomic position of newly isolated fish iridoviruses. *Virology*, 229(1), 212-220.

632 Mendoza-Almeralla, Cinthya, Burrowes, Patricia, & Parra-Olea, Gabriela. (2015). La
633 quitridiomycosis en los anfibios de México: una revisión. *Revista mexicana de*
634 *biodiversidad*, 86(1), 238-248.

635 Murrieta-Galindo, Rene, Parra-Olea, Gabriela, González-Romero, Alberto, López-Barrera, Fabiola,
636 & Vredenburg, Vance T. (2014). Detection of *Batrachochytrium dendrobatidis* in
637 amphibians inhabiting cloud forests and coffee agroecosystems in central Veracruz,
638 Mexico. *European journal of wildlife research*, 60(3), 431-439.

639 Paredes-Leon, Ricardo, Garcia-Prieto, Luis, Guzman-Cornejo, Carmen, Leon-Regagnon, Virginia, &
640 Perez, Tila M. (2008). Metazoan parasites of Mexican amphibians and reptiles.
641 *Zootaxa*(1904), 1-139.

642 Rojas, Santos, Richards, Kathryn, Jancovich, James K, & Davidson, Elizabeth W. (2005). Influence of
643 temperature on Ranavirus infection in larval salamanders *Ambystoma tigrinum*. *Diseases*
644 *of Aquatic Organisms*, 63(2-3), 95-100.

645 Romansic, John M, Johnson, Pieter TJ, Searle, Catherine L, Johnson, James E, Tunstall, Tate S, Han,
646 Barbara A, Blaustein, Andrew R. (2011). Individual and combined effects of multiple
647 pathogens on Pacific treefrogs. *Oecologia*, 166(4), 1029-1041.

648 Schock, Danna M, Bollinger, Trent K, Gregory Chinchar, V, Jancovich, James K, & Collins, James P.
649 (2008). Experimental evidence that amphibian ranaviruses are multi-host pathogens.
650 *Copeia*, 2008(1), 133-143.

651 Sinsch, Ulrich. (1990). Migration and orientation in anuran amphibians. *Ethology Ecology &*
652 *Evolution*, 2(1), 65-79.

653 Speare, R, & Smith, JR. (1992). An iridovirus-like agent isolated from the ornate burrowing frog
654 *Limnodynastes ornatus* in northern Australia. *Diseases of Aquatic Organisms*, 14, 51-51.

655 Stephens, Christopher R, Heau, Joaquín Giménez, González, Camila, Ibarra-Cerdeña, Carlos N,
656 Sánchez-Cordero, Victor, & González-Salazar, Constantino. (2009). Using biotic interaction
657 networks for prediction in biodiversity and emerging diseases. *PLoS One*, 4(5), e5725.

658 Team, R. (2012). Development core. *R: A language and environment for statistical computing,*
659 *reference index version*, 2(0).

660 Trejo, Irma, & Dirzo, Rodolfo. (2000). Deforestation of seasonally dry tropical forest: a national and
661 local analysis in Mexico. *Biological conservation*, 94(2), 133-142.

662 Wagner, Helene. (2015). Vegan: community ecology package. *R package*.

663 Wells, Kentwood D. (2010). *The ecology and behavior of amphibians*: University of Chicago Press.

664

665

666

667

668

669

670

671

672

673

674

675

676

677

678

679

680

CAPÍTULO 3

Efectos de la antropización del ambiente en las asociaciones y ensamble de parásitos en anfibios mexicanos

EFFECTOS DE LA ANTROPIZACIÓN DEL AMBIENTE EN LAS ASOCIACIONES Y ENSAMBLE DE PARÁSITOS EN ANFIBIOS MEXICANOS

Jacinto-Maldonado M^{1,2}, García Peña. G. E³, Silva Sarmiento R⁴, García A⁵, Suzán G²

1Doctorado en Ciencias de la Salud y Producción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Av. Universidad 3000, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, 04510, Distrito Federal, México. E-mail: acinom_80@hotmail.com

2Departamento de Etología, Fauna silvestre y Animales de Laboratorio, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, Av. Universidad 3000, UNAM, Ciudad Universitaria, 04510, Distrito Federal, México.

3Departamento de Publicaciones, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, Av. Universidad 3000, UNAM, Ciudad Universitaria, 04510, Distrito Federal, México

4Departamento de Microbiología, Laboratorio de Virología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, Av. Universidad 3000, UNAM, Ciudad Universitaria, 04510, Distrito Federal, México.

5Estación de Biología Chamela, Instituto de Biología, Apdo. Postal 21, San Patricio Melaque, 48980, La Huerta, Jalisco, México.

INTRODUCCIÓN

El estudio de las asociaciones entre las especies se ha abordado desde diferentes aproximaciones con la finalidad de entender cómo se relacionan las especies y cuál es el tipo de interacción que entre ellas existe.

El estudio de las asociaciones de especies en sistemas ecológicos ha sido abordado desde hace mucho tiempo de una forma sencilla, por medio de matrices de coincidencia de especies (Gotelli, 2000). Diamond en 1975, postuló patrones de ensamble acerca de las interacciones competitivas entre especies, los cuales argumentaba que generaban patrones de co-ocurrencia no aleatorios. En la actualidad existen muchas investigaciones, las cuales han tratado de resolver dicha controversia. Sin embargo, aún no se conoce si los roles de ensamble propuestos por Diamond son o no una generalidad, ya que diversas investigaciones coinciden con ellos y otras no (Gotelli and McCabe, 2002).

Ulrich and Gotelli 2013, Borthagaray et al., 2014 argumentan que la co-ocurrencia en una comunidad tiene un efecto en la interacción entre las especies y se ve reflejada por cambios en la abundancia o por la presencia o ausencia de los individuos en el espacio, influyendo en los patrones de ensamblaje de la comunidad, lo que al final resulta en una co-ocurrencia no aleatoria.

Diversas investigaciones han considerado la co-ocurrencia espacial significativa, como una asociación positiva o mutualista y la co-exclusión como una interacción negativa, como la competencia (Freilich et al., 2018, Faust et al., 2015, Fuhrman et al., 2015). Sin embargo, los patrones de co-ocurrencia de especies dentro de un ecosistema, también pueden ser un reflejo de los factores ambientales (Peres-Neto et al., 2001) o una limitante en la dispersión (Ulrich, 2004).

Las asociaciones entre las especies también se han abordado desde muchas aproximaciones. La ecología de comunidades denominó cómo organismos simbioses a todas aquellas especies con las que se tienen asociaciones benéficas, como el comensalismo o mutualismo y asociaciones perjudiciales como la competencia o el parasitismo (Bernhard et al., 2018).

Así mismo, el estudio de los simbioses se ha atribuido a la facilidad de estudiar a las especies a diferentes niveles jerárquicos (un hospedero, una población o una comunidad). Dicho enfoque también nos brinda valiosa información acerca de las relaciones de un parásito en un hospedero, o múltiples especies de parásitos simbioses en múltiples hospederos (Mihaljevic, 2012, Brown et al., 2011, De Meester, 2011).

Otro motivo por el que se ha estudiado a los parásitos simbioses, ha sido por la íntima relación que tienen con su hospedero (Koprivnikar et al., 2012), proveen un efectivo método para obtener información acerca de la distribución; la sensibilidad al medio ambiente; y son un reflejo de la diversidad de sus hospederos (Marcogliese and Cone, 1997, Byers et al., 2011).

Por su parte, el estudio de las comunidades a diferentes escalas tanto a nivel local como regional nos permite evaluar patrones de distribución de especies en espacios geográficos o

medioambientales. Con lo anterior podemos hacer inferencias acerca de cómo es afectada la composición de las especies en una comunidad. Por otro lado, Leibold et al. (2004) propuso un método teórico-mecanístico que permite explicar la interdependencia de las relaciones locales (dentro de especies, entre especies y/o entre especies y su medio) y regionales (cambios en la composición de la comunidad como resultado de la tasa de dispersión de las especies).

Leibold y Mikkelsen (2002) desarrollaron una aproximación cuantitativa para distinguir simultáneamente entre múltiples patrones hipotéticos de distribución de especies, basado en una matriz de incidencia. Esta aproximación evalúa tres elementos de la comunidad como son: la coherencia, el recambio y el agrupamiento de límites.

Por lo tanto, cuando las especies como grupo no se distribuyen de la misma forma en un gradiente medioambiental, las distribuciones no forman una estructura coherente. Por su parte, el recambio de especies es medido como el número de veces en el que una especie reemplaza a la otra en dos sitios (número de reemplazos), para cada posible par de especies y para cada posible par de sitios. El número de reemplazos observado en una comunidad es entonces comparado con modelos nulos (r_0 , r_1 , r_{00} , r_2), los cuales generan distintas distribuciones de especies, a partir del acomodo de diversas formas de la matriz de presencia o ausencia de especies en los diferentes sitios.

Un recambio negativo es consistente con distribuciones anidadas o, por el contrario, un recambio positivo es consistente con Gleason, Clement o con distribuciones uniformes espaciadas. En el caso de la distribución que postula Gleason, se enfoca en la respuesta específica que tienen las especies a su medio ambiente; donde se presentan distribuciones más espaciadas de lo que se esperaría por el cambio a través del tiempo. En el caso de la distribución que sustenta Clements, se enfoca a la inter-dependencia de las relaciones ecológicas que tienen las especies a través del tiempo, basada en su historia evolutiva.

El siguiente paso es evaluar el agrupamiento de límites, el cual arrojará un resultado que dependerá si el recambio es positivo o negativo. Compara mediante una prueba de bondad de ajuste (X^2) la distribución observada, con una distribución esperada; lo que sería el rango de la distribución de los límites de un sitio. Cuando la prueba de X^2 es significativa, el índice Morisita I (Relaciona las abundancias específicas con las abundancias relativas y el total. Es altamente sensible a la abundancia de las especies abundantes) es usado para determinar si los resultados representan límites agrupados. Si el resultado es positivo, corresponde a una estructura Clemensiana; si los resultados son negativos, representan límites hiper-dispersos e indican una estructura de espacios uniformes; por otra parte, si el resultado no es significativo, indican una respuesta individual de las especies a su medioambiente, lo cual supone una estructura Gleasoniana. Cuando el recambio es negativo indica que posiblemente se trate de las estructuras anidadas, que son caracterizadas por un patrón de pérdida de especies entre los sitios; cuando es negativo se trata de una pérdida hiper-dispersa de especies; cuando el resultado no es significativo, el patrón de pérdida de especies es estocástico; y cuando el resultado es positivo, corresponde a un patrón de pérdida de especies en grupos. La estructura de pérdida de especies puede

atribuirse a la biología de las especies, como la capacidad de dispersión que tiene cada especie, la especialización de hábitat y la tolerancia a las condiciones abióticas, entre otras (Presley et al., 2010, Clements, 1936, Gleason, 1926).

Por ejemplo, investigaciones que han abordado el estudio de los simbioses, desde la aproximación de la ecología de comunidades, sustentan que las comunidades de parásitos se estructuran al azar. Algunos apoyan esa hipótesis, pero proponen que las comunidades se estructuran al azar, cuando la diversidad de las comunidades de parásitos es baja. Mientras que otros han comprobado que las comunidades de parásitos simbioses tienen una sub estructura anidada cuando la aptitud ecológica (capacidad de adaptación a las condiciones) y la co-evolución se presenta entre simbioses y hospederos (Poulin, 1997, Dobson and Pacala, 1992, Brooks et al., 2006).

Otras investigaciones han analizado las asociaciones inter-especies mediante un modelo estadístico llamado ϵ , el cual calcula la probabilidad con la cual, las especies se asocian. Uno de esos estudios identificó a los hospederos más probables de *Leishmania mexicana* (Stephens et al., 2009). Otra investigación con el uso de sistemas de información geográfica, redes de interacciones bióticas y con la estimación de ϵ , predijo a los principales reservorios de Leishmaniasis, así como a las zonas de mayor riesgo donde se podía presentar la enfermedad en el país (Stephens et al., 2016).

Para profundizar acerca de lo anterior utilizamos como modelo de estudio a un grupo de vertebrados “anfíbios anuros”. Esta especie es un puente de comunicación entre ambientes acuáticos y terrestres, contribuyen al intercambio de nutrientes entre ambos hábitats y son parte de las dinámicas tróficas de las comunidades, por ser depredadores y presas de muchas especies (Ali et al., 2018). A nivel mundial, México ocupa el tercer lugar con mayor número de especies endémicas y el quinto en riqueza de especies de anfíbios (Frías-Alvarez et al., 2010, Gallant et al., 2007, Parra-Olea et al., 2005). De todos los grupos taxonómicos de vertebrados, los anfíbios son los que más riesgo de extinción presentan y México ocupa el segundo lugar como el país con más especies de anfíbios amenazados (Frías-Alvarez et al., 2010, IUCN, 2016).

Muchas han sido las causas que se han atribuido a las declinaciones de anfíbios, entre las principales están la destrucción y perturbación de su hábitat y las enfermedades emergentes, causadas por diferentes especies de parásitos simbioses (hongos, virus, helmintos) (Tattersall and Ultsch, 2008, Kraus, 2008, Daszak et al., 2003, Blaustein and Kiesecker, 2002, Densmore and Green, 2007).

Con respecto a la destrucción y perturbación de su hábitat algunos estudios mencionan que el aumento de la urbanización está asociado con la pérdida de biodiversidad y al cambio en la composición de las especies, lo que puede influir en la presencia y en la transmisión de parásitos (Bradley and Altizer, 2007, Koprivnikar and Redfern, 2012).

Koprivnikar y Redfern (2012) reportaron que, en zonas agrícolas debido a los contaminantes asociados a la perturbación del hábitat, las interacciones huésped-parásito fueron alteradas. Por otra parte, Marcogliese et al., (2009) encontraron que la riqueza de

especies de parásitos en cada sitio de muestreo disminuyó al aumentar la actividad agrícola y en el estudio de Lagrue et al., 2017, encontraron que la abundancia de parásitos fue mayor en ambientes antropizados.

Investigaciones acerca de los macroparásitos (tremátodos, nemátodos, ectoparásitos) en anfibios han demostrado que el paisaje puede tener un fuerte efecto de forma directa sobre los anfibios y también de forma indirecta al influir en los hospederos intermediarios o en la transmisión de sus parásitos (Koprivnikar and Redfern, 2012). Algunos autores sustentan que parásitos con ciclos de vida especializados o complejos son especialmente sensibles a los disturbios en el ambiente (Lafferty and Holt, 2003, Rohr et al., 2011).

En este contexto y con la intención de generar mayor conocimiento acerca de las relaciones parásito- hospedero y parásito-parásito en anuros mexicanos en los sitios de estudio, el objetivo de este trabajo es analizar la estructura de la comunidad de parásitos- simbioses en anuros mexicanos, así como entender patrones y procesos de ensamble, co-ocurrencia y asociación entre especies en diferentes ambientes (conservado vs antropizado) mediante diferentes aproximaciones (ecología de comunidades y análisis estadísticos) con la finalidad de identificar mediante diferentes herramientas las asociaciones que se generan o desaparecen dependiendo del ambiente.

Para llevar a cabo nuestros objetivos y debido a que en muchos de los artículos acerca de parásitos en anfibios no se presentan los resultados de co-ocurrencia de parásitos por individuo; obtuvimos registros de campo proporcionados por diferentes investigadores y colaboradores en diferentes temporadas y años con los que realizamos un meta-análisis con el que trabajamos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Recolección de los datos

Se elaboró un meta-análisis con 1450 registros de parásitos obtenidos en anfibios (38 especies de parásitos registrados en 13 especies de anfibios) de vida libre (el listado de las especies de anfibios, parásitos y lugar de recolecta se presenta en la sección de resultados).

Sitios de estudio

Los datos provinieron de anuros capturados en sitios conservados y antropizados en diferentes temporadas y años. **Jalisco** (Septiembre, 1995 y Agosto y Septiembre 2012) y **Veracruz** (Noviembre 1990, Enero-Febrero 1991, Junio 1991, Agosto 1996, Septiembre 1996, Junio-Noviembre 1996, 2000,2002, Mayo 1997, Julio 1997, Febrero 1997, 1998, Noviembre 1998, Septiembre 2012).

En el estado de Veracruz tuvimos dos puntos de recolecta de anfibios 1) En la Reserva de Biosfera Los Tuxtlas (sitio conservado) y otro 2) En el centro de Catemaco, en el embarcadero (sitio antropizado). En el estado de Jalisco también hubo dos puntos de recolecta de anfibios 1) En la Reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala (sitio conservado) y otro en 2) en el pueblo Emiliano Zapata (sitio antropizado).

Análisis del cambio de uso de suelo en sitios conservados y antropizados

Adicionalmente para conocer el efecto que tiene la perturbación del ambiente en la presencia y asociación entre parásitos, analizamos la perturbación del ambiente en el sitio considerado como conservado (Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas) y el sitio considerado como antropizado (Embarcadero del pueblo de Catemaco), mediante un análisis geográfico, llamado “Clasificación no supervisada”.

Con el uso de imágenes satelitales (LandSat) y sistemas de información geográfica (ArcMap 10.3.1, QGis Browser 2.28.13 y ENVI). En ambos sitios, realizamos buffers de 500 m, 1 km, 6 km y 10 km para conocer el porcentaje de cambio de uso de suelo en ambos sitios dependiendo de la escala de análisis.

En cada buffer clasificamos el uso de suelo en diferentes clases (urbanización, agricultura, cuerpos de agua y bosque), debido a que en las imágenes hubo pixeles donde no se llegó a determinar el uso de suelo; también contemplamos una clasificación llamada “sin clasificación”. El análisis de clasificación no supervisada consiste en asignar una categoría al uso de suelo por pixel y calcula mediante el número total de pixeles, el porcentaje de pixeles que tiene cada clase en cada buffer que se analice (cuadros 11 y 12, figura 3).

Análisis de datos

Con la finalidad de analizar a la comunidad de parásitos de una escala regional a una local, primero analizamos en todos los sitios de muestreo a todas las especies de anfibios y a sus parásitos. Después para analizar a nivel local a la comunidad de parásitos, seleccionamos a la especie de anfibio mejor representada, tanto en un sitio conservado como en uno

antropizado. *Rhinella marina* fue la especie que tuvo el mayor número de registros tanto en el sitio conservado (Reserva de la Biosfera Los tuxtlas) como en el antropizado (Embarcadero de Catemaco) en el estado de Veracruz.

El análisis a escala local tuvo la finalidad de analizar de forma más específica las relaciones que existen entre las especies de parásitos o entre las especies de parásitos y su hábitat (anfíbio); así como reducir factores de confusión que ocurren a niveles biogeográficos más grandes.

Para la realización del análisis de comunidades utilizamos las paqueterías Metacom (Dallas, 2014) y Biodiversity (Kindt and Coe, 2005) en el programa R (R Core Team, 2014). Realizamos el análisis de la estructura de la comunidad con los modelos nulos r0 y r1 los cuales mantienen el acomodo de las filas sin modificar (presencia/ausencia de hospederos) y cambian las columnas de forma aleatoria (presencia/ausencia de las especies de parásitos). En específico r0 llena las filas (presencia/ausencia de especies de parásitos) en cualquier lugar, sin tomar en cuenta las columnas (presencia/ausencia de hospederos). En el caso de r1, usa las frecuencias marginales de las columnas (presencia/ausencia de hospederos) como probabilidades.

Para conocer qué asociaciones se presentan entre las especies de parásitos; realizamos otro análisis, basado en el valor de ϵ desarrollado por Stephens et al., 2009, donde obtenemos un valor de probabilidad, el cual, cuando el resultado del valor de ϵ es positivo, sugiere una relación positiva; y cuando el resultado del valor de ϵ es negativo, sugiere que no existe una asociación entre las especies. El resultado es significativo si no se encuentra en un rango de -1.9 a 1.9.

Para visualizar de mejor forma el valor de ϵ y las interacciones que existen entre las especies de parásitos, realizamos un análisis de redes por sitio de estudio, utilizando la paquetería igraph en los programas R (R Core Team, 2014) y Cytoscape (Shannon et al., 2018).

RESULTADOS

Resultados a escala regional

Diversidad de anfibios hospederos

En el cuadro 1 se presentan a las especies de anfibios y el número de individuos que se recolectaron de cada especie, en el estado de Veracruz. Las especies mejor representadas fueron *Rhinella marina*, *Lithobates vaillanti* y *Eleutherodactylus rhodopsis* y las que tuvieron menor representación fueron *Incilius valliceps*, *Tlalocohyla picta* e *Hyla manisorum*.

Cuadro 1. Tamaño de muestra de cada especie de anfibio analizada en los dos sitios de muestreo en el estado de Veracruz.

Veracruz		
N	Especie de anfibio	
	Número de individuos	
1	<i>Rhinella marina</i>	115
2	<i>Lithobates vaillanti</i>	98
3	<i>Eleutherodactylus rhodopsis</i>	85
4	<i>Leptodactylus melanotus</i>	46
5	<i>Smilisca cyanosticta</i>	34
6	<i>Lithobates berlandieri</i>	29
7	<i>Dendropsophus microps</i>	26
8	<i>Incilius valliceps</i>	16
9	<i>Tlalocohyla picta</i>	11
10	<i>Hyla manisorum</i>	9

En el cuadro 2 se presentan las especies de anfibios y el número de individuos que se recolectaron de cada especie, en el estado de Jalisco. Las especies mejor representadas fueron *Rhinella marina* y *Tlalocohyla smithii* y las menos representadas fueron *Incilius marmoratus* y *Agalychnis dacnicolor*.

Cuadro 2. Tamaño de muestra de las especies de anfibios analizadas en los dos sitios de recolecta en el estado de Jalisco.

Jalisco	
Especie de anfibio	Número de individuos
<i>Rhinella marina</i>	49
<i>Tlalocohyla smithii</i>	22
<i>Incilius marmoratus</i>	19
<i>Agalychnis dacnicolor</i>	1

Diversidad de parásitos

En el cuadro 3 se muestran a las especies de parásitos y a las frecuencias registradas en las especies de anfibios recolectados en los estados de Jalisco y Veracruz. En el cuadro 3 se puede observar que las especies que tuvieron mayores frecuencias en los hospederos fueron *Aplectana incerta*, *Rhabdias fuelleborni* y *Cosmocerca podicipinus* y las que tuvieron menores frecuencias fueron *Polystoma naevius*, *Parapharyngodon* sp., Trematoda gen. sp

Cuadro 3. Frecuencia de las especies de parásitos presentes en 560 anfibios capturados en los estados de Jalisco y Veracruz.

Especie de parásito	Frecuencia en diferentes hospederos
<i>Aplectana incerta</i>	198
<i>Rhabdias fuelleborni</i>	186
<i>Cosmocerca podicipinus</i>	117
<i>Langeronia macrocirra</i>	84
<i>Oswaldocruzia sp</i>	75
<i>Haematoloechus medioplexus</i>	54
<i>Oswaldocruzia subulascaris</i>	52
<i>Physocephalus sp.</i>	50
<i>Ochoterenella digiticauda</i>	49
<i>Hannemania mexicana</i>	47
<i>Centrorhynchus sp</i>	39
<i>Glythelmins fascioi</i>	31
<i>Physaloptera sp</i>	30
<i>Amblyomma sp</i>	25
<i>Metacercaria fam gen sp.</i>	24
<i>Rhabdias elegans</i>	20
<i>Nematotaenia dispar</i>	17
<i>Porrocaecum sp.</i>	16
<i>Hannemania hylae</i>	14
<i>Aplectana itzacanensis</i>	13
<i>Gorgoderina attenuata</i>	12
<i>Ascaroidea gen sp</i>	9
<i>Ascarops sp.</i>	9
<i>Cistacanto fam gen sp</i>	9
<i>Glythelmins californiensis</i>	9
<i>Mesocoelium monas</i>	9
<i>Spiroxys sp</i>	7
<i>Cephalogonimus americanus</i>	6
<i>Clinostomum complanatum</i>	5
<i>Acantocephala gen sp cistacanto</i>	3
<i>Gorgoderina parvicava</i>	3
<i>Rhabdias tobagoensis</i>	3
<i>Strongyloides sp</i>	3
<i>Subulascaris falcaustriformis</i>	3
<i>Megalodiscus sp.</i>	2
<i>Polystoma naevius</i>	2
<i>Parapharyngodon sp</i>	1
<i>Trematoda gen sp</i>	1

En el cuadro 4 se muestran a las especies de parásitos y a las frecuencias registradas en las especies de anfibios recolectados en el estado de Jalisco. En el cuadro 4 se puede observar que las especies que tuvieron mayores frecuencias en los hospederos fueron *Physaloptera* sp., *Rhabdias fueleborni* y *Hannemania hylae*.

Cuadro 4. Frecuencia de las especies de parásitos presentes en los 91 hospederos anfibios analizados en el estado de Jalisco.

Frecuencia de las especies de parásitos en hospederos de Jalisco

Especie de parásito	Frecuencia en diferentes hospederos
<i>Physaloptera</i> _sp	20
<i>Rhabdias_fuelleborni</i>	15
<i>Hannemania_hylae</i>	14
<i>Centrorhynchus</i> _sp	13
<i>Aplectana_incerta</i>	10
<i>Ochoterenella_digiticauda</i>	4
<i>Acantocephala_gen_sp_cistacanto</i>	3
<i>Parapharyngodon</i> _sp	1
<i>Trematoda_gen_sp</i>	1

En el cuadro 5 se muestran a las especies de parásitos y a las frecuencias registradas en las especies de anfibios recolectados en el estado de Veracruz. En el cuadro 5 se puede observar que las especies que tuvieron mayores frecuencias en los hospederos fueron *Aplectana incerta*, *Rhabdias fueleborni* y *Cosmocerca podicipinus*.

Cuadro 5. Frecuencia de las especies de parásitos presentes en 469 anfibios capturados en el estado de Veracruz.

Especie de parásito	Frecuencia en diferentes hospederos
<i>Aplectana_incerta</i>	188
<i>Rhabdias_fuelleborni</i>	171
<i>Cosmocerca_podicipinus</i>	117
<i>Langeronia_macrocirra</i>	84
<i>Oswaldocruzia_sp</i>	75
<i>Haematoloechus_medioplexus</i>	54
<i>Oswaldocruzia_subulascaris</i>	52
<i>Physocephalus_sp.</i>	50
<i>Hannemania_mexicana</i>	47
<i>Ochoterenella_digiticauda</i>	45
<i>Glypthelmins_fascioi</i>	31
<i>Centrorhynchus_sp</i>	26
<i>Amblyomma_sp</i>	25
<i>Metacercaria_fam_gen_sp.</i>	24
<i>Rhabdias_elegans</i>	20
<i>Nematotaenia_dispar</i>	17
<i>Porrocaecum_sp.</i>	16
<i>Aplectana_itzocanensis</i>	13
<i>Gorgoderina_attenuata</i>	12
<i>Physaloptera_sp</i>	10
<i>Ascaroidea_gen_sp</i>	9
<i>Ascarops_sp.</i>	9
<i>Cistacanto_fam_gen_sp</i>	9
<i>Glypthelmins_californiensis</i>	9
<i>Mesocoelium_monas</i>	9
<i>Spiroxys_sp</i>	7
<i>Cephalogonimus_americanus</i>	6
<i>Clinostomum_complanatum</i>	5
<i>Gorgoderina_parvicava</i>	3
<i>Rhabdias_tobagoensis</i>	3
<i>Strongyloides_sp</i>	3
<i>Subulascaris_falcaustriformis</i>	3
<i>Megalodiscus_sp.</i>	2
<i>Polystoma_naevius</i>	2

Análisis a escala regional de las comunidades de parásitos

En el cuadro 6 presentamos los resultados del análisis de comunidades a nivel regional (todas las especies de parásitos en todos los sitios de estudio de los estados Jalisco y Veracruz).

El resultado al analizar la coherencia, el recambio y el agrupamiento fue una estructura de pérdida de especies en grupos en ambos casos.

Cuadro 6. Resultados a nivel regional del análisis de comunidades de parásitos en anfibios de los estados de Jalisco y Veracruz.

Modelo nulo	Coherencia	Recambio		Agrupamiento		Estructura	
r0	11.345	0.0007	-0.292	0.770	4.579	0	Pérdida de especies en grupos
r1	5.824	0.0005	-0.271	0.785	4.579	0	Pérdida de especies en grupos

En el cuadro 7 presentamos los resultados del análisis a nivel regional únicamente de los registros obtenidos en el estado de Jalisco. Al evaluar la coherencia, el recambio y el agrupamiento obtuvimos una estructura aleatoria.

Cuadro 7. Resultados a nivel regional del análisis de comunidades de parásitos de anfibios en el estado de Jalisco.

Modelo nulo	Coherencia	Recambio		Agrupamiento		Estructura	
r0	0.653	0.513	1.507	0.131	1.477	0	Aleatoria
r1	0.822	0.410	0.180	0.856	1.477	0	Aleatoria

En el cuadro 8 mostramos los resultados a nivel regional de los registros obtenidos en el estado de Veracruz. Al evaluar la coherencia, el recambio y el agrupamiento obtuvimos una estructura Clemensiana.

Cuadro 8. Resultados a nivel regional del análisis de comunidades de parásitos de anfibios en el estado de Veracruz.

Modelo nulo	Coherencia	Recambio		Agrupamiento		Estructura	
r0	11.854	0.0002	-2.956	0.003	4.148	0	Clemensiana
r1	7.046	0.0001	-2.313	0.020	4.148	0	Clemensiana

Resultados a escala local

Análisis a escala local de las comunidades de parásitos

Los resultados a nivel regional mostraron una estructura de pérdida de especies en grupos y Clemensiana, las cuales sugieren que existen asociaciones entre las especies de parásitos y/o asociación entre las especies de parásitos y hospederos. Con la finalidad de reducir los factores de confusión debido a las condiciones ambientales en los diferentes sitios y a la biología de las diferentes especies de anfibios; seleccionamos a una especie de anfibio llamada *Rhinella marina* (especie mejor representada) presente tanto en sitios conservados como antropizados (n=164 individuos) en la que se registraron 17 especies de parásitos en total.

En el cuadro 9 se muestra el tamaño de muestra de la especie *Rhinella marina* en los diferentes sitios de muestreo donde se recolectó, también se presentan los tamaños de muestra por sitio, el número de individuos que fueron positivos, así como los negativos y las fechas en las que fueron recolectados.

Cuadro 9. Sitios y temporadas de muestreo de la especie *Rhinella marina*

Sitio de muestreo	Tamaño de muestra	Individuos Positivos	Individuos Negativos	Temporada de muestreo
1 Estación de Biología Los Tuxtlas, Veracruz	50	41	9	Noviembre del año 1990 Febrero y Junio de 1991
2 Embarcadero, Catemaco, Veracruz	65	65	0	Mayo de 1997
3 Poblado Emiliano Zapata Jalisco	49	32	17	Septiembre de 1995

En el cuadro 10 presentamos los resultados a nivel local de *Rhinella marina* en los estados de Jalisco y Veracruz. Al evaluar la coherencia, el recambio y el agrupamiento obtuvimos una estructura de pérdida de especies en grupos.

Cuadro 10. Resultados a escala local del análisis de comunidades de parásitos de *Rhinella marina* en los estados de Jalisco y Veracruz.

Modelo nulo	Coherencia	Recambio	Agrupamiento	Estructura			
r0	6.09	0	0.57	0.56	4.66	0	Pérdida de especies en grupos
r1	2.81	0	-0.33	0.74	4.66	0	Pérdida de especies en grupos

Los resultados obtenidos del análisis de comunidades en parásitos de *Rhinella marina* en Jalisco y Veracruz tuvieron una estructura de pérdida de especies en grupos, dando como resultado que existen asociaciones entre las diferentes especies de parásitos.

Para analizar las asociaciones entre las especies de parásitos y para conocer el efecto que tiene la antropización del hábitat en ello; comparamos el sitio conservado contra el sitio antropizado en el estado de Veracruz, ya que es el estado que tiene un mayor número de registros de *Rhinella marina* tanto en el sitio conservado como en el antropizado.

Análisis del cambio de uso de suelo entre el sitio conservado y antropizado

Para conocer qué tan diferente es el uso de suelo en el sitio conservado (Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas) comparado con el sitio antropizado (embarcadero de Catemaco), realizamos un análisis llamado “clasificación no supervisada” el cual calcula por medio de imágenes satelitales el porcentaje de uso de suelo en cada buffer a diferentes escalas (500 m, 1 km, 6 km, 10 km).

En el cuadro 11 y 12 presentamos los resultados del análisis en los diferentes buffers. En negritas podemos observar los valores en el buffer realizado a 500 metros, el cual es el buffer en el que se observa un mayor cambio en el uso de suelo entre los dos sitios.

Cuadro 11. Resultados del uso de suelo en buffers a 500m, 1 km, 6 km y 10 km en el sitio denominado conservado (Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas).

CONSERVADO				
Clases	500 m	1 km	6 km	10 km
Bosque	67.82	72.74	48.4	39.56
Zonas urbanas	4.09	4.92	7.04	6.45
Zonas agrícolas	21.03	17.34	22.51	19
Cuerpos de agua	7.04	4.97	21.98	34.45
No clasificada	0.02	0.03	0.07	0.54

Cuadro 12. Resultados del uso de suelo en buffers a 500m, 1 km, 6 km y 10 km en el sitio denominado antropizado (Embarcadero del pueblo de Catemaco).

ANTROPIZADO				
Clases	500 m	1 km	6 km	10 km
Bosque	31.28	42.14	39.64	47.40
Zonas urbanas	67.82	39.48	10.54	11.43
Zonas agrícolas	0.89	4.68	18.89	21.89
Cuerpos de agua	0	13.63	30.87	18.69
No clasificada	0.01	0.07	0.06	0.59

En la figura 1 mostramos de forma más clara los valores obtenidos del uso de suelo en el buffer de 500 metros tanto en el sitio conservado como en el antropizado. Utilizamos los valores de ese buffer debido a que fue el buffer donde se observó un mayor cambio en el porcentaje de uso de suelo entre ambos sitios.

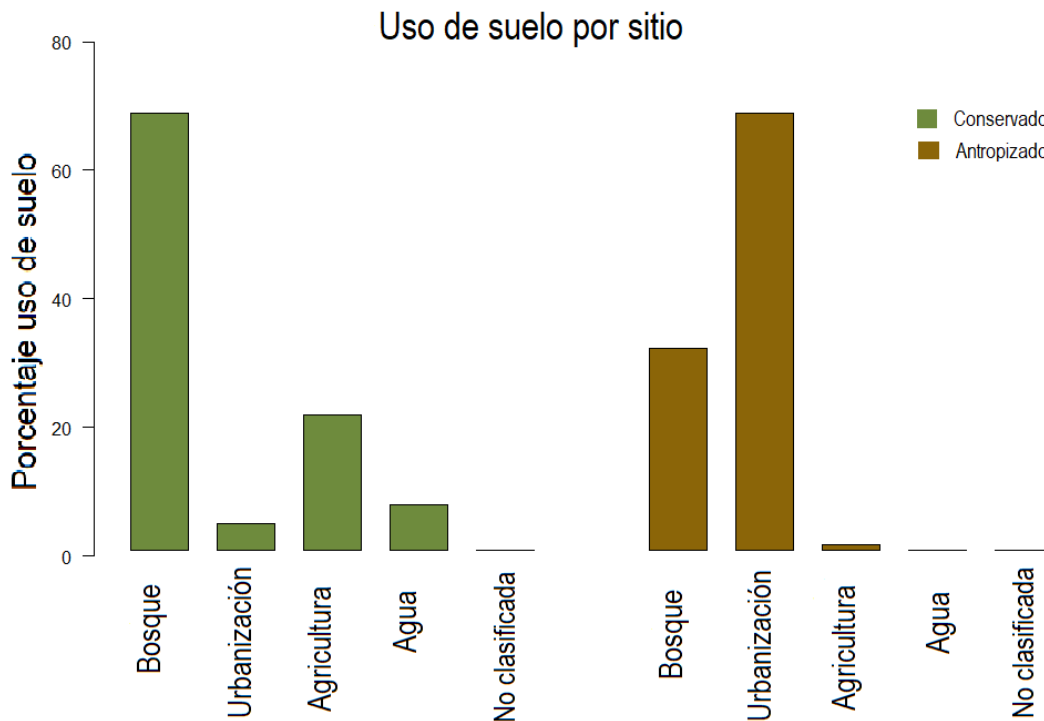


Figura 1. Porcentaje de uso de suelo en el sitio conservado y antropizado.

Para conocer qué tan diferente es el sitio conservado contra el sitio antropizado, realizamos la figura 2. Donde se muestra la composición y la riqueza de especies de parásitos presentes en *Rhinella marina* el sitio conservado y antropizado.

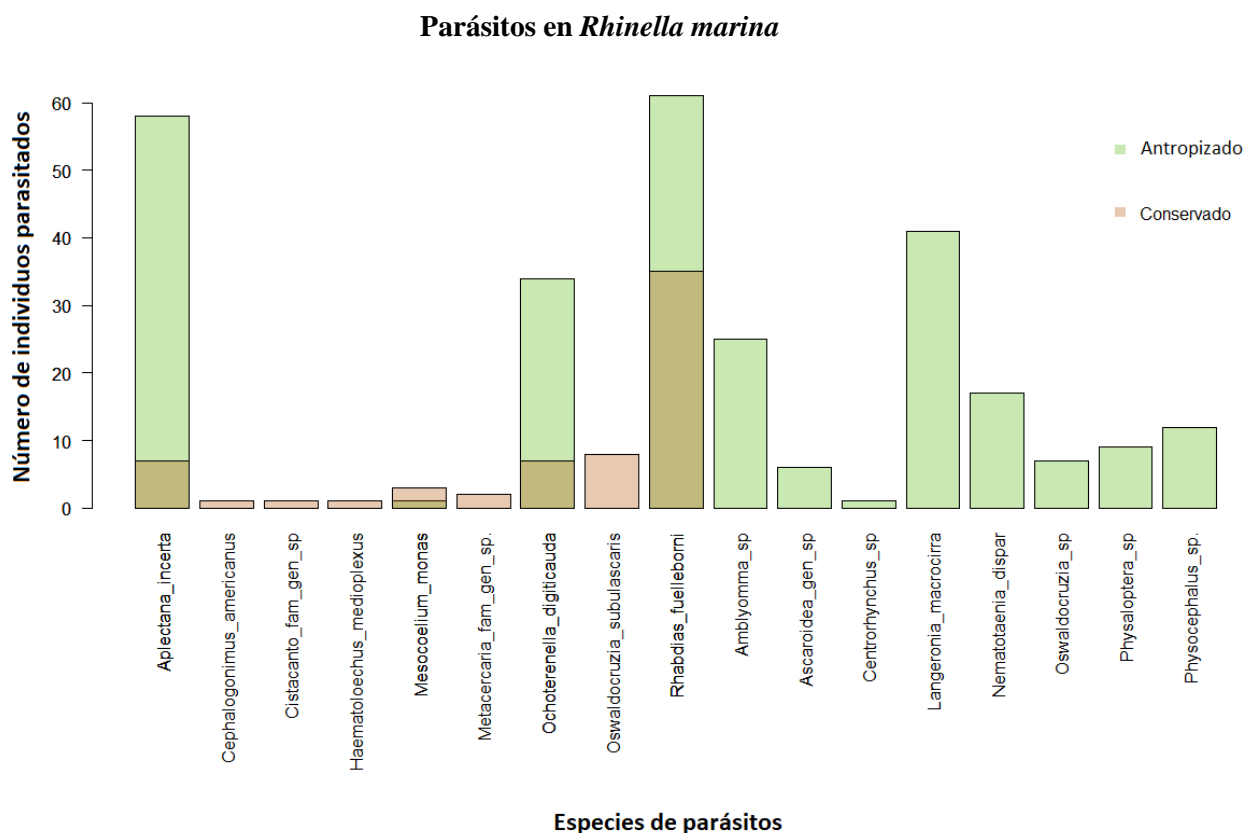


Figura 2. En las barras observamos 5 especies de parásitos (*Cephalogonimus americanus*, *Cistacanto fam gen sp*, *Haematoloechus medioplexus*, *Metacercaria fam gen sp* y *Oswaldocruzia subulascaris*) presentes únicamente en el sitio conservado con menor frecuencia y 8 especies de parásitos (*Amblyomma sp.*, *Ascaroidea gen sp.*, *Centrorhynchus sp.*, *Langeronia macrocirra*, *Nematotaenia dispar*, *Oswaldocruzia sp.*, *Physaloptera sp.*, *Physocephalus sp.*) presentes únicamente en el sitio perturbado con mayores frecuencias.

Únicamente 4 especies de parásitos estuvieron presentes en ambos sitios (*Aplectana incerta*, *Mesocoelium monas*, *Ochoterenella digiticauda* y *Rhabdias fueleborni*).

En la figura 3 mostramos de forma separada a las especies de parásitos que estuvieron presentes en el sitio conservado, en el sitio antropizado y en ambos sitios.

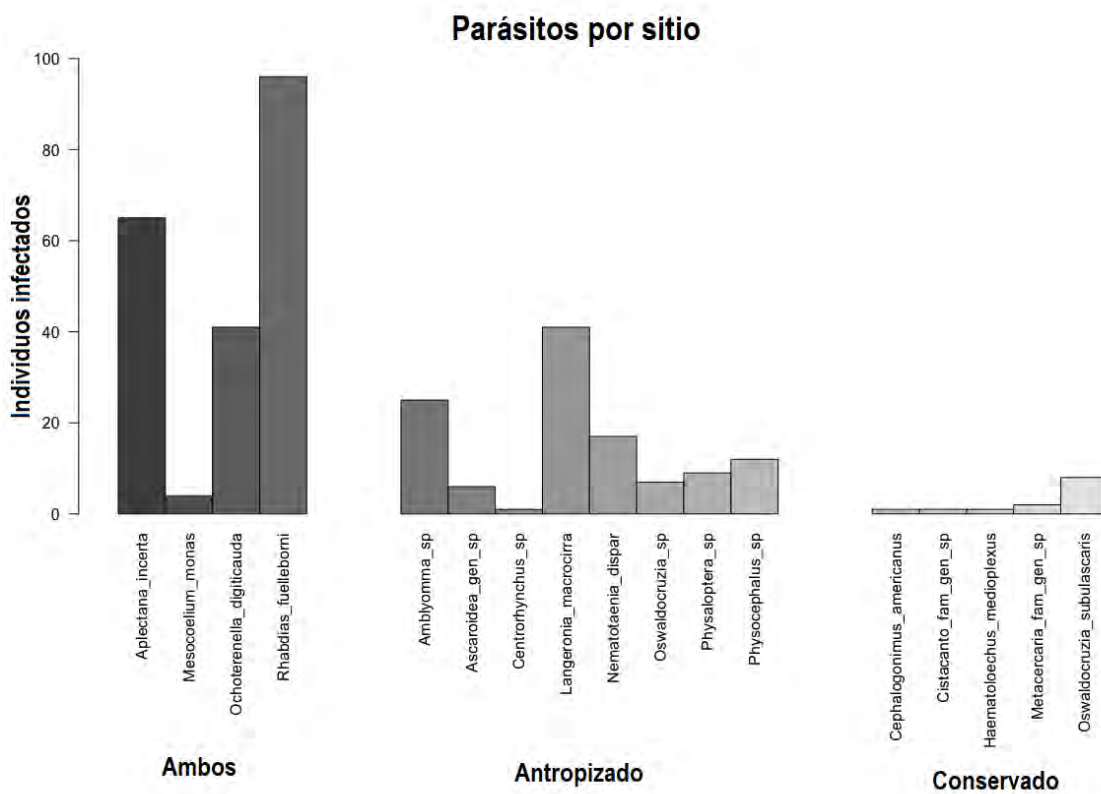


Figura 3. Especies de parásitos registrados en *Rhinella marina* en el sitio conservado, antropizado y parásitos registrados en ambos sitios. Los parásitos que infectaron a un mayor número de individuos están presentes en ambos sitios. El sitio antropizado presentó un mayor número de especies de parásitos a diferencia del sitio conservado.

Efecto de la antropización en las asociaciones entre parásitos

Con la finalidad de conocer la asociación entre las especies de parásitos presentes tanto en el sitio conservado como en el sitio antropizado, utilizamos la fórmula de épsilon y su valor de score para conocer si existe una relación positiva o negativa y si esa relación es significativa.

En el cuadro 13 podemos observar a las especies de parásitos presentes en el sitio antropizado, su valor de épsilon y de score. Los tres primeros pares de especies que están marcadas en negritas son las especies que tuvieron asociaciones positivas y que fueron significativas.

ANTROPIZADO

Especie 1	Especie 2	Epsilon	Score
<i>Physocephalus_sp.</i>	<i>Ascaroidea_gen_sp</i>	3.04	2.18
<i>Centrorhynchus_sp</i>	<i>Physaloptera_sp</i>	2.33	2.08
<i>Langeronia_macrocirra</i>	<i>Ochoterenella_digiticauda</i>	2.33	1.00
<i>Nematotaenia_dispar</i>	<i>Centrorhynchus_sp</i>	1.68	0.00
<i>Rhabdias_fuelleborni</i>	<i>Ochoterenella_digiticauda</i>	1.49	0.00
<i>Oswaldocruzia_sp</i>	<i>Amblyomma_sp</i>	1.49	0.73
<i>Ascaroidea_gen_sp</i>	<i>Physaloptera_sp</i>	1.35	1.03
<i>Ascaroidea_gen_sp</i>	<i>Langeronia_macrocirra</i>	1.20	0.52
<i>Langeronia_macrocirra</i>	<i>Physaloptera_sp</i>	0.91	0.72
<i>Nematotaenia_dispar</i>	<i>Langeronia_macrocirra</i>	0.81	0.27
<i>Langeronia_macrocirra</i>	<i>Centrorhynchus_sp</i>	0.77	0.00
<i>Langeronia_macrocirra</i>	<i>Mesocoelium_monas</i>	0.77	0.00
<i>Physocephalus_sp.</i>	<i>Amblyomma_sp</i>	0.71	0.33
<i>Langeronia_macrocirra</i>	<i>Rhabdias_fuelleborni</i>	0.67	0.18
<i>Mesocoelium_monas</i>	<i>Ochoterenella_digiticauda</i>	0.66	0.66
<i>Physocephalus_sp.</i>	<i>Langeronia_macrocirra</i>	0.58	0.22
<i>Nematotaenia_dispar</i>	<i>Aplectana_incerta</i>	0.55	0.16
<i>Ascaroidea_gen_sp</i>	<i>Amblyomma_sp</i>	0.48	0.29
<i>Physocephalus_sp.</i>	<i>Aplectana_incerta</i>	0.44	0.14
<i>Nematotaenia_dispar</i>	<i>Ochoterenella_digiticauda</i>	0.43	0.16
<i>Amblyomma_sp</i>	<i>Physaloptera_sp</i>	0.37	0.25
<i>Aplectana_incerta</i>	<i>Centrorhynchus_sp</i>	0.35	0.00
<i>Aplectana_incerta</i>	<i>Mesocoelium_monas</i>	0.35	0.00
<i>Amblyomma_sp</i>	<i>Ochoterenella_digiticauda</i>	0.33	0.11
<i>Physocephalus_sp.</i>	<i>Ochoterenella_digiticauda</i>	0.32	0.14
<i>Oswaldocruzia_sp</i>	<i>Aplectana_incerta</i>	0.32	0.13
<i>Rhabdias_fuelleborni</i>	<i>Aplectana_incerta</i>	0.31	0.18

<i>Nematotaenia_dispar</i>	<i>Rhabdias_fuelleborni</i>	0.30	0.09
<i>Ascaroidea_gen_sp</i>	<i>Aplectana_incerta</i>	0.29	0.13
<i>Rhabdias_fuelleborni</i>	<i>Mesocoelium_monas</i>	0.26	0.00
<i>Physocephalus_sp.</i>	<i>Rhabdias_fuelleborni</i>	0.24	0.08
<i>Amblyomma_sp</i>	<i>Nematotaenia_dispar</i>	0.23	0.11
<i>Physaloptera_sp</i>	<i>Rhabdias_fuelleborni</i>	0.21	0.07
<i>Ochoterenella_digiticauda</i>	<i>Physaloptera_sp</i>	0.20	0.13
<i>Amblyomma_sp</i>	<i>Aplectana_incerta</i>	0.19	0.05
<i>Ascaroidea_gen_sp</i>	<i>Rhabdias_fuelleborni</i>	0.16	0.07
<i>Centrorhynchus_sp</i>	<i>Rhabdias_fuelleborni</i>	0.06	0.06
<i>Oswaldocruzia_sp</i>	<i>Physaloptera_sp</i>	0.03	0.04
<i>Aplectana_incerta</i>	<i>Physaloptera_sp</i>	-0.03	-0.04
<i>Ascaroidea_gen_sp</i>	<i>Ochoterenella_digiticauda</i>	-0.08	-0.05
<i>Amblyomma_sp</i>	<i>Rhabdias_fuelleborni</i>	-0.12	-0.03
<i>Mesocoelium_monas</i>	<i>Centrorhynchus_sp</i>	-0.13	0.00
<i>Aplectana_incerta</i>	<i>Ochoterenella_digiticauda</i>	-0.19	-0.10
<i>Amblyomma_sp</i>	<i>Langeronia_macrocirra</i>	-0.25	-0.08
<i>Ascaroidea_gen_sp</i>	<i>Centrorhynchus_sp</i>	-0.32	0.00
<i>Ascaroidea_gen_sp</i>	<i>Mesocoelium_monas</i>	-0.32	0.00
<i>Oswaldocruzia_sp</i>	<i>Centrorhynchus_sp</i>	-0.35	0.00
<i>Oswaldocruzia_sp</i>	<i>Mesocoelium_monas</i>	-0.35	0.00
<i>Mesocoelium_monas</i>	<i>Physaloptera_sp</i>	-0.38	0.00
<i>Langeronia_macrocirra</i>	<i>Aplectana_incerta</i>	-0.43	-0.12
<i>Physocephalus_sp.</i>	<i>Centrorhynchus_sp</i>	-0.48	0.00
<i>Physocephalus_sp.</i>	<i>Mesocoelium_monas</i>	-0.48	0.00
<i>Physocephalus_sp.</i>	<i>Physaloptera_sp</i>	-0.57	-0.59
<i>Nematotaenia_dispar</i>	<i>Mesocoelium_monas</i>	-0.60	0.00
<i>Oswaldocruzia_sp</i>	<i>Rhabdias_fuelleborni</i>	-0.65	-0.30
<i>Oswaldocruzia_sp</i>	<i>Nematotaenia_dispar</i>	-0.65	-0.66
<i>Amblyomma_sp</i>	<i>Centrorhynchus_sp</i>	-0.79	0.00
<i>Amblyomma_sp</i>	<i>Mesocoelium_monas</i>	-0.79	0.00
<i>Oswaldocruzia_sp</i>	<i>Ascaroidea_gen_sp</i>	-0.85	0.00
<i>Oswaldocruzia_sp</i>	<i>Physocephalus_sp.</i>	-0.85	0.00
<i>Oswaldocruzia_sp</i>	<i>Ochoterenella_digiticauda</i>	-0.92	-0.66
<i>Nematotaenia_dispar</i>	<i>Physaloptera_sp</i>	-1.03	-1.04
<i>Ochoterenella_digiticauda</i>	<i>Centrorhynchus_sp</i>	-1.05	0.00
<i>Oswaldocruzia_sp</i>	<i>Langeronia_macrocirra</i>	-1.22	-0.86
<i>Ascaroidea_gen_sp</i>	<i>Nematotaenia_dispar</i>	-1.31	0.00
<i>Physocephalus_sp.</i>	<i>Nematotaenia_dispar</i>	-1.34	-1.29

Cuadro 13. Asociaciones de parásitos en el sitio antropizado, su valor de épsilon y score.

En el cuadro 14 podemos observar a las especies de parásitos presentes en el sitio antropizado, su valor de épsilon y de score. Los tres primeros pares de especies que están marcadas en negritas son las especies que tuvieron asociaciones positivas y que fueron significativas y las tres últimas marcadas también en negritas fueron asociaciones negativas que fueron significativas.

CONSERVADO

Especie 1	Especie 2	Epsilon	Score
<i>Aplectana_incerta</i>	<i>Mesocoelium_monas</i>	2.63	2.51
<i>Mesocoelium_monas</i>	<i>Oswaldocruzia_subulascaris</i>	2.26	1.65
<i>Cistacanto_fam_gen_sp</i>	<i>Oswaldocruzia_subulascaris</i>	2.12	1.95
<i>Aplectana_incerta</i>	<i>Oswaldocruzia_subulascaris</i>	1.92	1.30
<i>Metacercaria_fam_gen_sp.</i>	<i>Aplectana_incerta</i>	1.39	1.39
<i>Aplectana_incerta</i>	<i>Ochoterenella_digiticauda</i>	1.11	0.90
<i>Oswaldocruzia_subulascaris</i>	<i>Ochoterenella_digiticauda</i>	0.91	0.74
<i>Metacercaria_fam_gen_sp.</i>	<i>Rhabdias_fuelleborni</i>	0.12	0.09
<i>Haematoloechus_medioplexus</i>	<i>Rhabdias_fuelleborni</i>	0.08	0.09
<i>Cistacanto_fam_gen_sp</i>	<i>Rhabdias_fuelleborni</i>	0.08	0.09
<i>Cephalogonimus_americanus</i>	<i>Rhabdias_fuelleborni</i>	0.08	0.09
<i>Cistacanto_fam_gen_sp</i>	<i>Haematoloechus_medioplexus</i>	-0.14	0.00
<i>Cephalogonimus_americanus</i>	<i>Haematoloechus_medioplexus</i>	-0.14	0.00
<i>Cephalogonimus_americanus</i>	<i>Cistacanto_fam_gen_sp</i>	-0.14	0.00
<i>Oswaldocruzia_subulascaris</i>	<i>Rhabdias_fuelleborni</i>	-0.14	-0.06
<i>Cephalogonimus_americanus</i>	<i>Metacercaria_fam_gen_sp.</i>	-0.20	0.00
<i>Metacercaria_fam_gen_sp.</i>	<i>Haematoloechus_medioplexus</i>	-0.20	0.00
<i>Metacercaria_fam_gen_sp.</i>	<i>Cistacanto_fam_gen_sp</i>	-0.20	0.00
<i>Haematoloechus_medioplexus</i>	<i>Mesocoelium_monas</i>	-0.25	0.00
<i>Cistacanto_fam_gen_sp</i>	<i>Mesocoelium_monas</i>	-0.25	0.00
<i>Cephalogonimus_americanus</i>	<i>Mesocoelium_monas</i>	-0.25	0.00
<i>Metacercaria_fam_gen_sp.</i>	<i>Mesocoelium_monas</i>	-0.35	0.00
<i>Haematoloechus_medioplexus</i>	<i>Ochoterenella_digiticauda</i>	-0.38	0.00
<i>Cistacanto_fam_gen_sp</i>	<i>Ochoterenella_digiticauda</i>	-0.38	0.00
<i>Cephalogonimus_americanus</i>	<i>Ochoterenella_digiticauda</i>	-0.38	0.00
<i>Haematoloechus_medioplexus</i>	<i>Aplectana_incerta</i>	-0.38	0.00
<i>Cistacanto_fam_gen_sp</i>	<i>Aplectana_incerta</i>	-0.38	0.00
<i>Cephalogonimus_americanus</i>	<i>Aplectana_incerta</i>	-0.38	0.00
<i>Haematoloechus_medioplexus</i>	<i>Oswaldocruzia_subulascaris</i>	-0.40	0.00
<i>Cephalogonimus_americanus</i>	<i>Oswaldocruzia_subulascaris</i>	-0.40	0.00
<i>Metacercaria_fam_gen_sp.</i>	<i>Ochoterenella_digiticauda</i>	-0.54	0.00
<i>Metacercaria_fam_gen_sp.</i>	<i>Oswaldocruzia_subulascaris</i>	-0.58	0.00
<i>Mesocoelium_monas</i>	<i>Ochoterenella_digiticauda</i>	-0.67	0.00

<i>Rhabdias_fuelleborni</i>	<i>Aplectana_incerta</i>	-3.40	-2.15
<i>Rhabdias_fuelleborni</i>	<i>Ochoterenella_digiticauda</i>	-3.40	-2.15
<i>Rhabdias_fuelleborni</i>	<i>Mesocoelium_monas</i>	-3.75	-3.14

Cuadro 14. Especies de parásitos presentes en el sitio Conservado, su valor de épsilon y score.

Análisis de redes de las asociaciones entre parásitos

Basados en el valor de épsilon elaboramos los siguientes análisis de redes para visualizar de forma más clara las asociaciones entre las especies de parásitos.

En la figura 4 observamos que los enlaces más grandes y oscuros son las especies de parásitos que tuvieron los valores más altos de épsilon y también se puede observar que el tamaño de los nodos representa la conectividad que tiene cada especie de parásito. En esta imagen los nodos tienen un tamaño similar.

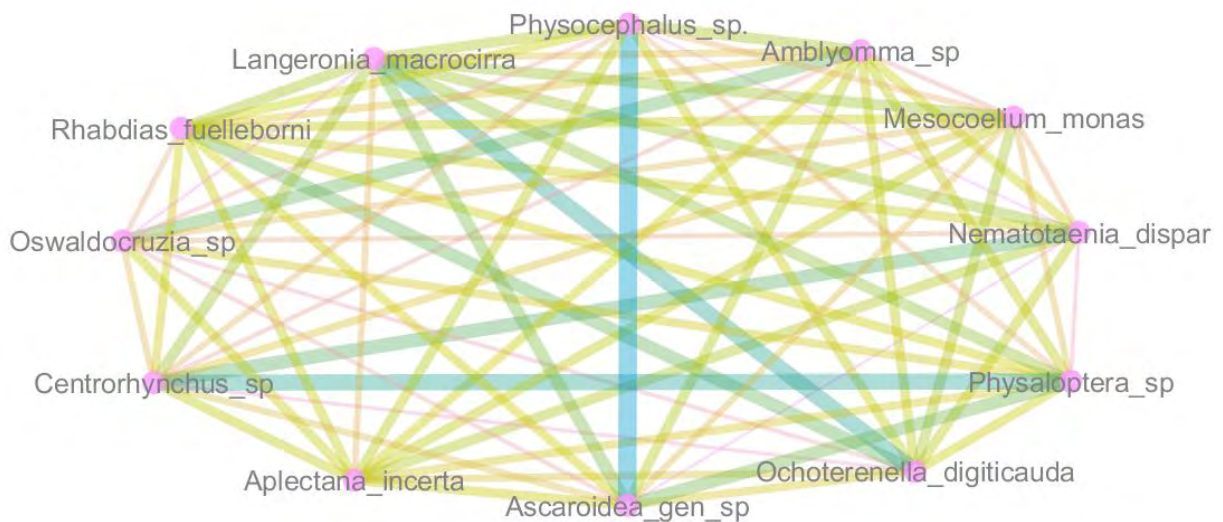


Figura 4. Especies de parásitos presentes en el sitio antropizado. El tamaño y color de los enlaces que conectan entre uno y otro nodo representan el valor de épsilon, entre más oscuro y más ancho sea el enlace, es mayor el valor de épsilon. El tamaño de los nodos representa la conectividad que tiene cada especie de parásito con otros parásitos.

En la figura 5 observamos que los enlaces más grandes y oscuros son las especies de parásitos que tuvieron los valores más altos de ϵ y también se puede observar que el tamaño de los nodos representa la conectividad que tiene cada especie de parásito. En esta imagen los nodos tienen un tamaño diferente dependiendo de la especie de parásito.

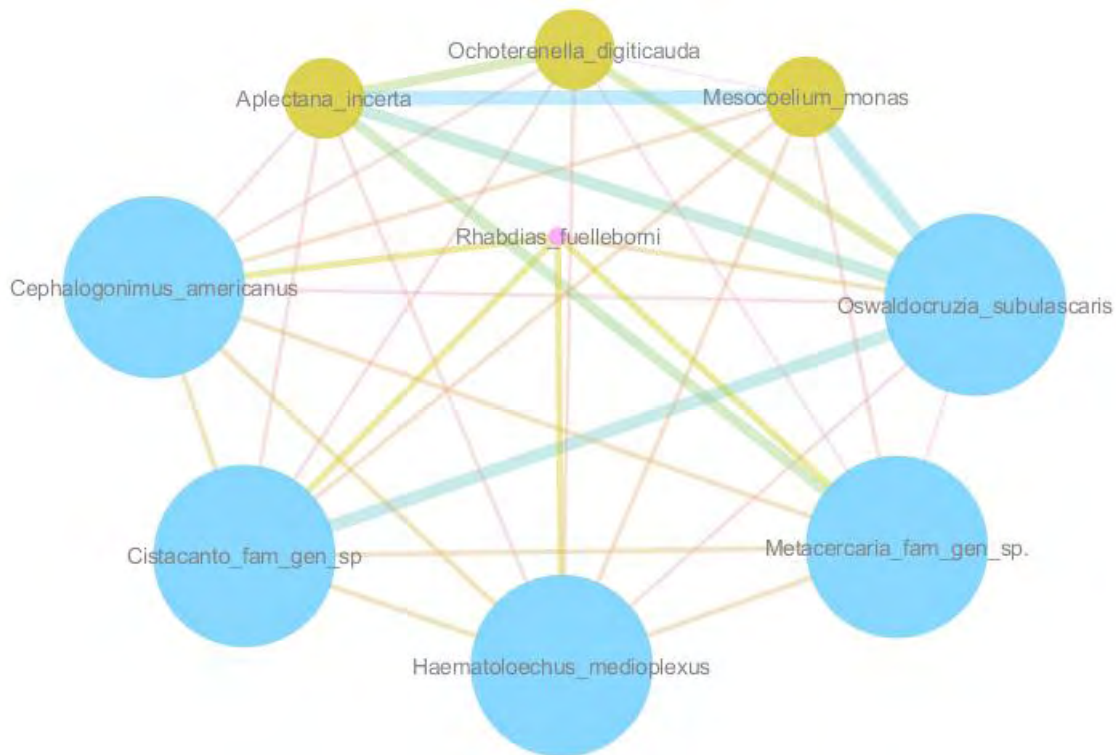


Figura 5. Especies de parásitos presentes en el sitio conservado. El tamaño y color de los enlaces que conectan entre uno y otro nodo representan el valor de ϵ , entre más obscuro y más ancho sea el enlace, es mayor el valor de ϵ . El tamaño de los nodos representa la conectividad que tiene cada especie de parásito con otros parásitos.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

La presente investigación es la primera en su tipo en abordar el estudio de las interacciones entre las especies parásitos en anfibios mexicanos en sitios conservados y antropizados con la aproximación de la ecología de comunidades y mediante análisis probabilísticos.

Los resultados a nivel regional de la estructura de las comunidades de parásitos en Jalisco y Veracruz mostraron una estructura de “pérdida de especies en grupos”. Este tipo de estructura según Presley et al., (2010) se debe a que existen grupos de especies que se mantienen juntas. Esto se puede deber a las condiciones bióticas y abióticas en los sitios de estudio como la temperatura, humedad, cuerpos de agua, vegetación, hospederos intermediarios etc. que propicien que ciertas especies de parásitos crezcan y se desarrollen más en un sitio que en otro (Krasnov et al., 2001, Gehman et al., 2018, Buss and Hua, 2018). Otro factor por considerar son los hospederos, las diferentes especies de anfibios presentes en Veracruz no son las mismas que están presentes en Jalisco y la biología de cada especie de anfibio es un reflejo de las preferencias que tienen en cuanto a sus hábitos y al tipo de alimentación. En consecuencia, puede hacerlos más propensos a adquirir diferentes especies de parásitos dependiendo del sitio, las condiciones ambientales y de la especie de anfibio de la que se trate (Caviedes-Solis and Leaché, 2018, Ali et al., 2018).

Acerca de los resultados obtenidos a nivel regional en el estado de Jalisco obtuvimos una estructura “aleatoria”. Según Presley et al., (2010) y (Suzán et al., 2015) mencionan que este tipo de estructura se presenta cuando las especies responden de forma diferente a un gradiente ambiental o también argumentan que esto puede ocurrir cuando las especies no tienen una afinidad por algún sitio en particular o por las condiciones presentes en esos sitios.

A nivel regional la estructura de la comunidad de parásitos de Veracruz tuvo una estructura Clemensiana y basados en Clements (1916), Presley et al., (2010) y Suzán et al., (2015) sugieren que éste tipo de estructuras se forman cuando existen ecotonos o regiones biogeográficas diferentes y coincide con nuestros datos, pues los registros analizados provienen de sitios con características bióticas y abióticas diferentes. Uno de ellos fue un sitio conservado (Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas) y uno antropizado (Embarcadero de Catemaco) en Veracruz y otro sitio antropizado (centro del pueblo Emiliano Zapata) en Jalisco. Otra posibilidad puede deberse a que en nuestros datos se presente una especificidad parásito-hospedero como lo reportado en la investigación de Cooper et al., (2012).

Nuestros resultados sugieren que sí existen asociaciones entre parásitos y hospederos. Lo cual se puede deber a que hay especies de anfibios como *Tlalocohyla smithii* o *Incilius marmoratus* y especies de parásitos (*Parapharyngodon* sp. y *Hannemania hylae*) que únicamente estuvieron presentes en Jalisco y no en los otros dos sitios de muestreo en el estado de Veracruz. En el caso de Veracruz, especies de anfibios como *Lithobates vaillanti* o *Leptodactylus melanonotus* o parásitos como *Langeronia macrocirra* o *Haematoloechus medioplexus* solo estuvieron presentes en ese estado y no en Jalisco. El estudio puede

reflejar cierta especificidad de parásitos y hospederos por cierto hábitat como lo reportan algunas investigaciones (Caviedes-solis and leaché, 2018; Ali et al., 2018).

En el estudio de Lewinsohn et al. (2006) reportaron algo similar, una estructura Clamensiana. En su análisis ellos incluyeron registros de plantas e insectos y atribuyeron esa estructura a la interacción que existía entre ciertas especies de plantas e insectos.

Con la finalidad de descartar factores de confusión biológicos (asociados a la biología de cada especie de anfibio), decidimos centrarnos en las asociaciones entre parásitos en una especie de anfibio; para ello realizamos un análisis a nivel local, utilizando como modelo a la especie de anfibio (*R. marina*), la mejor muestreada, presente tanto en sitios conservados como antropizados. Realizamos un análisis para conocer la diferencia en la perturbación del ambiente entre ambos sitios y encontramos que en el sitio conservado dominaron las zonas con bosque y en el sitio antropizado dominaron las zonas urbanas por lo que el uso de suelo en ambos sitios fue completamente diferente.

Los resultados a escala local mostraron una estructura de “pérdida de especies de parásitos en grupos”, lo cual, puede deberse a que la asociación que se presenta entre los hospederos capturados en los diferentes sitios. A las diferencias o similitudes en las condiciones a las que están expuestos los individuos de la especie *R. marina* en los sitios de recaptura, por ejemplo, al tipo de alimentación o al contacto con diferentes hospederos intermediarios (Gustafson et al., 2018). Por otra parte, también se pueden presentar o no se descartan asociaciones entre parásitos como eventos de facilitación o exclusión (Leibold et al., 2004).

Con respecto al análisis por medio de épsilon, obtuvimos en el sitio antropizado tres asociaciones que fueron significativas positivas las cuales están relacionadas por especies de parásitos 1) en las que los anfibios fungen como hospederos paraténicos (*Centrorhynchus* sp, y *Physaloptera* sp.); 2) en las que los anfibios son hospederos definitivos (*Langeronia macrocirra* y *Ochoterenella digiticauda*) y; 3) en las que los anfibios son hospederos accidentales (*Physocephalus* sp. y *Ascaroidea* gen. sp.). Particularmente en el caso de *Ascaroidea* gen. sp. no se sabe si es hospedero definitivo, paraténico o accidental porque no fue posible realizar su determinación taxonómica.

En el análisis de épsilon en el sitio conservado encontramos tres asociaciones positivas significativas, dos de ellas están asociadas con una especie de nemátodo y una de trematodo y los anfibios son hospederos definitivos: (*Aplectana incerta* y *Mesocoelium monas*) y (*Mesocoelium monas* y *Oswaldocruzia subulascaris*) y una relación entre una especie de nemátodo y un acantocéfalo (*Oswaldocruzia subulascaris* y *Cistacanto* fam gen sp.); en esta asociación solo en el caso del nemátodo *Oswaldocruzia subulascaris* se conoce que los anfibios son hospederos definitivos.

En el sitio conservado también obtuvimos tres asociaciones significativas negativas que estuvieron dominadas por asociaciones entre nemátodos en las que los anfibios son hospederos definitivos (*Rhabdias fuelleborni* y *Aplectana incerta*) y (*Rhabdias fuelleborni* y *Ochoterenella digiticauda*) y otra asociación de un nemátodo con un trematodo en los que

los anfibios también son hospederos definitivos para ambos (*Rhabdias fuelleborni* y *Mesocoelium monas*).

Con respecto a la diferencia en diversidad de parásitos presente en el sitio conservado y perturbado, podemos interpretar que, en este caso, el ambiente antropizado favoreció el parasitismo aumentando su riqueza y abundancia en los hospederos. Algunas investigaciones han encontrado que la destrucción y perturbación del hábitat tienen un efecto en la presencia, transmisión (Bradley and Altizer, 2007, Lehrer and Schooley, 2010) y en las interacciones huésped parásito (Koprivnikar et al., 2012).

En nuestra investigación a diferencia de Marcogliese et al., (2009) encontramos mayor riqueza en el sitio antropizado que en el conservado; esta diferencia puede deberse a que su sitio de muestreo perturbado fue una zona agrícola y en nuestro caso fue en un embarcadero, posiblemente esas diferencias se deban a los tipos de perturbación del ambiente o a los factores bióticos o abióticos, que permiten que los parásitos se desarrollen (Caviedes-Solis and Leaché, 2018, Ali et al., 2018).

Investigaciones que se han enfocado en parásitos con ciclos de vida especializados o complejos, sustentan que estos son especialmente sensibles a los disturbios en el ambiente (Lafferty and Holt, 2003, Koprivnikar et al., 2012), lo anterior coincide con nuestra investigación con las especies de parásitos *Cephalogonimus americanus* y *Haematoloechus medioplexus*.

Acerca de las cuatro especies de parásitos (*Aplectana incerta*, *Mesocoelium monas*, *Ochoterenella digiticauda* y *Rhabdias fuelleborni*) que estuvieron presentes tanto en el sitio conservado como perturbado, pudo deberse a que esas especies son resistentes a la perturbación. Se puede explicar en el caso de *Aplectana incerta* y *Rhabdias fuelleborni* a que tuvieron los requerimientos ambientales de temperatura y humedad necesarios en ambos sitios para desarrollarse y reproducirse con una alta frecuencia en los hospederos (Krasnov et al., 2001, Gehman et al., 2018).

Las altas frecuencias que se presentaron en las dos especies (*Aplectana incerta* y *Rhabdias fuelleborni*) pueden atribuirse a que son especies que no dependen de hospederos intermediarios para completar su ciclo de vida y por ello es más fácil para ellas mantenerse en los hospederos. *Mesocoelium monas* y *Ochoterenella digiticauda* son especies que necesitan hospederos intermediarios para llegar a los anfibios; esto nos puede dar información acerca de que en ambos sitios tanto moluscos como mosquitos pueden ser abundantes y estar transmitiendo parásitos a los anfibios.

Mesocoelium monas tuvo mayor frecuencia en los hospederos del sitio conservado, lo cual puede deberse a que en este sitio podemos encontrar mayor cantidad de moluscos atribuido esto, principalmente a las características del hábitat (vegetación, temperatura, humedad, tipo de sustrato, etc) presentes en el sitio conservado (Wong and Bundy, 1985, Freitas, 1958, Bursey et al., 2006).

Con respecto a *Ochoterenella digiticauda* se conoce que necesita a un hospedero intermediario hematófago para llevar a cabo su transmisión y lo que encontramos fue que en sitios perturbados, la frecuencia de *Ochoterenella* fue mayor que en el sitio conservado; se puede interpretar que en el sitio perturbado, la presencia de mosquitos hematófagos es mayor que en el sitio conservado; además nos puede estar brindando información acerca de la función que tiene la diversidad en el impacto de las enfermedades (Schmidt and Ostfeld, 2001) y en la importancia que tienen las especies de anfibios al consumir a los vectores hematófagos, realizando su función como controlador de plagas (Ali et al., 2018) o como amortiguadores de enfermedades como las que transmiten algunos vectores hematófagos (Dengue, Zika o Chikungunya) a los humanos (Rodríguez-Morales et al., 2016).

Nuestros resultados muestran la importancia de considerar en el mismo estudio el análisis a diferentes escalas; descartando factores de confusión y teniendo una aproximación más global acerca de los procesos que intervienen en las relaciones parásito-hospedero mediante análisis que se pueden complementar llegando a integrar un conocimiento más detallado.

En general encontramos que en el sitio antropizado la riqueza y abundancia de parásitos fue mayor. La composición de especies cambió en ambos sitios, únicamente cuatro parásitos estuvieron presentes en el sitio conservado y en el antropizado y las asociaciones significativas encontradas entre las especies de parásitos fueron mayores en el sitio conservado. El sitio antropizado tuvo un mayor número de asociaciones positivas que el sitio conservado.

Finalmente, para entender mejor qué factores bióticos y abióticos de sitios antropizados y conservados favorecen que ciertas especies de parásitos se desarrollen y sí las asociaciones positivas y negativas significativas que encontramos se mantienen tanto en el laboratorio como en vida libre, sugerimos llevar a cabo estudios experimentales e investigaciones que recolecten datos de vida libre, a mayor escala, analizando un mayor número de especies de anfibios, de sitios conservados y antropizados.

En conclusión, consideramos que conocer, interpretar y predecir asociaciones entre parásitos y hospederos puede ayudar contribuir en el conocimiento acerca de las relaciones parásito-hospedero. Aunado a estudiar el efecto de la perturbación del ambiente, puede brindarnos una idea más clara acerca de cómo los anuros responden a los cambios en su hábitat, contribuyendo a generar mayor evidencia acerca del efecto que tienen sobre ellos dichos cambios y finalmente teniendo la posibilidad de proponer estrategias de conservación para muchas especies de anfibios.

BIBLIOGRAFÍA

- ALI, W., JAVID, A., HUSSAIN, A. & BUKHARI, S. M. 2018. Diversity and habitat preferences of amphibians and reptiles in Pakistan: A review. *Journal of Asia-Pacific Biodiversity*.
- BERNHARD, J. M., TSUCHIYA, M. & NOMAKI, H. 2018. Ultrastructural observations on prokaryotic associates of benthic foraminifera: food, mutualistic symbionts, or parasites? *Marine Micropaleontology*, 138, 33-45.
- BLAUSTEIN, A. R. & KIESECKER, J. M. 2002. Complexity in conservation: lessons from the global decline of amphibian populations. *Ecology letters*, 5, 597-608.
- BORTHAGARAY, A. I., ARIM, M. & MARQUET, P. A. 2014. Inferring species roles in metacommunity structure from species co-occurrence networks. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 281, 20141425.
- BRADLEY, C. A. & ALTIZER, S. 2007. Urbanization and the ecology of wildlife diseases. *Trends in ecology & evolution*, 22, 95-102.
- BROOKS, D. R., LEÓN-RÈGAGNON, V., MCLENNAN, D. A. & ZELMER, D. 2006. Ecological fitting as a determinant of the community structure of platyhelminth parasites of anurans. *Ecology*, 87.
- BROWN, B. L., SWAN, C. M., AUERBACH, D. A., GRANT, E. H. C., HITT, N. P., MALONEY, K. O. & PATRICK, C. 2011. Metacommunity theory as a multispecies, multiscale framework for studying the influence of river network structure on riverine communities and ecosystems. *Journal of the North American Benthological Society*, 30, 310-327.
- BURSEY, C. R., GOLDBERG, S. R. & TELFORD, S. 2006. New species of Aplectana (Nematoda: Cosmocercidae) and Mesocoelium monas (Digenea: Brachycoeliidae) in Lepidophyma flavimaculatum (Squamata: Xantusiidae) from Costa Rica. *Caribbean Journal of Science*, 42, 164.
- BUSS, N. & HUA, J. 2018. Parasite susceptibility in an amphibian host is modified by salinization and predators. *Environmental Pollution*, 236, 754-763.
- BYERS, J. E., ALTMAN, I., GROSE, A. M., HUSPENI, T. C. & MAERZ, J. C. 2011. Using parasitic trematode larvae to quantify an elusive vertebrate host. *Conservation Biology*, 25, 85-93.
- CAVIEDES-SOLIS, I. W. & LEACHÉ, A. D. 2018. Leapfrogging the Mexican highlands: influence of biogeographical and ecological factors on the diversification of highland species. *Biological Journal of the Linnean Society*, 123, 767-781.
- CLEMENTS, F. E. 1916. *Plant succession: an analysis of the development of vegetation*, Carnegie Institution of Washington.
- CLEMENTS, F. E. 1936. Nature and structure of the climax. *Journal of ecology*, 24, 252-284.
- COOPER, N., GRIFFIN, R., FRANZ, M., OMOTAYO, M. & NUNN, C. L. 2012. Phylogenetic host specificity and understanding parasite sharing in primates. *Ecology letters*, 15, 1370-1377.
- DALLAS, T. 2014. metacom: an R package for the analysis of metacommunity structure. *Ecography*, 37, 402-405.
- DASZAK, P., CUNNINGHAM, A. A. & HYATT, A. D. 2003. Infectious disease and amphibian population declines. *Diversity and Distributions*, 9, 141-150.
- DE MEESTER, L. 2011. A metacommunity perspective on the phylo-and biogeography of small organisms. *Biogeography of microscopic organisms: Is everything small everywhere*, 324-334.
- DENSMORE, C. L. & GREEN, D. E. 2007. Diseases of amphibians. *Ilar Journal*, 48, 235-254.
- DIAMOND, J. M. 1975. Assembly of species communities. *Ecology and evolution of communities*, 342-444.

- DOBSON, A. & PACALA, S. 1992. The parasites of Anolis lizards the northern Lesser Antilles. II. The structure of the parasite community. *Oecologia*, 118-125.
- FAUST, K., LAHTI, L., GONZE, D., DE VOS, W. M. & RAES, J. 2015. Metagenomics meets time series analysis: unraveling microbial community dynamics. *Current opinion in microbiology*, 25, 56-66.
- FREILICH, M. A., WIETERS, E., BROITMAN, B. R., MARQUET, P. A. & NAVARRETE, S. A. 2018. Species co-occurrence networks: Can they reveal trophic and non-trophic interactions in ecological communities? *Ecology*, 99, 690-699.
- FREITAS, J. 1958. Breve nota sôbre o Distoma monas Rudolphi, 1819 (Trematoda). *Revista Brasileira de Biologia*, 18, 171-174.
- FRÍAS-ALVAREZ, P., ZÚNIGA-VEGA, J. J. & FLORES-VILLELA, O. 2010. A general assessment of the conservation status and decline trends of Mexican amphibians. *Biodiversity and Conservation*, 19, 3699-3742.
- FUHRMAN, J. A., CRAM, J. A. & NEEDHAM, D. M. 2015. Marine microbial community dynamics and their ecological interpretation. *Nature Reviews Microbiology*, 13, 133.
- GALLANT, A. L., KLAVER, R. W., CASPER, G. S. & LANNOO, M. J. 2007. Global rates of habitat loss and implications for amphibian conservation. *Copeia*, 2007, 967-979.
- GEHMAN, A.-L. M., HALL, R. J. & BYERS, J. E. 2018. Host and parasite thermal ecology jointly determine the effect of climate warming on epidemic dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 201705067.
- GLEASON, H. A. 1926. The individualistic concept of the plant association. *Bulletin of the Torrey botanical club*, 7-26.
- GM, L. M. A. M. 2002. Coherence, species turnover, and boundary clumping: elements of meta-community structure. *Oikos*, 97, 13.
- GOTELLI, N. J. 2000. Null model analysis of species co-occurrence patterns. *Ecology*, 81, 2606-2621.
- GOTELLI, N. J. & MCCABE, D. J. 2002. Species co-occurrence: A meta-analysis of JM Diamond's assembly rules model. *Ecology*, 83, 2091-2096.
- GUSTAFSON, K. D., NEWMAN, R. A., RHEN, T. & TKACH, V. V. Spatial and genetic structure of directly-transmitted parasites reflects the distribution of their specific amphibian hosts. *Population Ecology*, 1-13.
- IUCN 2016. IUCN Red List of Threatened Species. *Downloaded on 10 October 2015.*, 10.
- KINDT, R. & COE, R. 2005. *Tree diversity analysis: a manual and software for common statistical methods for ecological and biodiversity studies*, World Agroforestry Centre.
- KOPRIVNIKAR, J., MARCOGLIESE, D. J., ROHR, J. R., ORLOFSKE, S. A., RAFFEL, T. R. & JOHNSON, P. T. 2012. Macroparasite infections of amphibians: what can they tell us? *EcoHealth*, 9, 342-360.
- KOPRIVNIKAR, J. & REDFERN, J. C. 2012. Agricultural effects on amphibian parasitism: importance of general habitat perturbations and parasite life cycles. *Journal of Wildlife Diseases*, 48, 925-936.
- KRASNOV, B. R., KHOKHLOVA, I. S., FIELDEN, L. J. & BURDELOVA, N. V. 2001. Effect of air temperature and humidity on the survival of pre-imaginal stages of two flea species (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, 38, 629-637.
- KRAUS, F. 2008. *Alien reptiles and amphibians: a scientific compendium and analysis*, Springer Science & Business Media.
- LAFFERTY, K. D. & HOLT, R. D. 2003. How should environmental stress affect the population dynamics of disease? *Ecology Letters*, 6, 654-664.

- LAGRUE, C., BESSON, A. & LECERF, A. 2018. Small alteration–big impacts: effects of small-scale riparian forest management on host–parasite dynamics in streams. *Journal of helminthology*, 92, 64-73.
- LEHRER, E. W. & SCHOOLEY, R. L. 2010. Space use of woodchucks across an urbanization gradient within an agricultural landscape. *Journal of Mammalogy*, 91, 1342-1349.
- LEIBOLD, M. A., HOLYOAK, M., MOUQUET, N., AMARASEKARE, P., CHASE, J. M., HOOPEES, M. F., HOLT, R. D., SHURIN, J. B., LAW, R. & TILMAN, D. 2004. The metacommunity concept: a framework for multi-scale community ecology. *Ecology letters*, 7, 601-613.
- MARCOGLIESE, D. J. & CONE, D. K. 1997. Food webs: a plea for parasites. *Trends in Ecology & Evolution*, 12, 320-325.
- MARCOGLIESE, D. J., KING, K. C., SALO, H. M., FOURNIER, M., BROUSSEAU, P., SPEAR, P., CHAMPOUX, L., MCLAUGHLIN, J. D. & BOILY, M. 2009. Combined effects of agricultural activity and parasites on biomarkers in the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Aquatic Toxicology*, 91, 126-134.
- MIHALJEVIC, J. R. 2012. Linking metacommunity theory and symbiont evolutionary ecology. *Trends in ecology & evolution*, 27, 323-329.
- PARRA-OLEA, G., MARTÍNEZ-MEYER, E. & DE LEÓN, G. P. P. 2005. Forecasting climate change effects on salamander distribution in the highlands of central Mexico. *Biotropica*, 37, 202-208.
- PERES-NETO, P. R., OLDEN, J. D. & JACKSON, D. A. 2001. Environmentally constrained null models: site suitability as occupancy criterion. *Oikos*, 93, 110-120.
- POULIN, R. 1997. Parasite faunas of freshwater fish: the relationship between richness and the specificity of parasites. *International journal for parasitology*, 27, 1091-1098.
- PRESLEY, S. J., HIGGINS, C. L. & WILLIG, M. R. 2010. A comprehensive framework for the evaluation of metacommunity structure. *Oikos*, 119, 908-917.
- ROHR, J. R., DOBSON, A. P., JOHNSON, P. T., KILPATRICK, A. M., PAULL, S. H., RAFFEL, T. R., RUIZ-MORENO, D. & THOMAS, M. B. 2011. Frontiers in climate change–disease research. *Trends in ecology & evolution*, 26, 270-277.
- SCHMIDT, K. A. & OSTFELD, R. S. 2001. Biodiversity and the dilution effect in disease ecology. *Ecology*, 82, 609-619.
- STEPHENS, C. R., GONZÁLEZ-SALAZAR, C., SÁNCHEZ-CORDERO, V., BECKER, I., REBOLLAR-TELLEZ, E., RODRÍGUEZ-MORENO, Á., BERZUNZA-CRUZ, M., BALCELLS, C. D., GUTIÉRREZ-GRANADOS, G. & HIDALGO-MIHART, M. 2016. Can you judge a disease host by the company it keeps? Predicting disease hosts and their relative importance: A case study for Leishmaniasis. *PLoS neglected tropical diseases*, 10, e0005004.
- STEPHENS, C. R., HEAU, J. G., GONZÁLEZ, C., IBARRA-CERDEÑA, C. N., SÁNCHEZ-CORDERO, V. & GONZÁLEZ-SALAZAR, C. 2009. Using biotic interaction networks for prediction in biodiversity and emerging diseases. *PLoS One*, 4, e5725.
- SUZÁN, G., GARCÍA-PEÑA, G. E., CASTRO-ARELLANO, I., RICO, O., RUBIO, A. V., TOLSÁ, M. J., ROCHE, B., HOSSEINI, P. R., RIZZOLI, A. & MURRAY, K. A. 2015. Metacommunity and phylogenetic structure determine wildlife and zoonotic infectious disease patterns in time and space. *Ecology and Evolution*, 5, 865-873.
- TATTERSALL, G. J. & ULTSCH, G. R. 2008. Physiological ecology of aquatic overwintering in ranid frogs. *Biological Reviews*, 83, 119-140.
- TEAM, R. C. 2014. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2014.
- ULRICH, W. 2004. Species co-occurrences and neutral models: reassessing JM Diamond's assembly rules. *Oikos*, 107, 603-609.

- ULRICH, W. & GOTELLI, N. J. 2013. Pattern detection in null model analysis. *Oikos*, 122, 2-18.
- WONG, M. & BUNDY, D. 1985. Population distribution of *Ochoterenella digiticauda* (Nematoda: Onchocercidae) and *Mesocoelium monas* (Digenea: Brachycoeliidae) in naturally infected *Bufo marinus* (Amphibia: Bufonidae) from Jamaica. *Parasitology*, 90, 457-461.

CONCLUSIONES

En el capítulo 1 reportamos por vez primera a la especie *Hannemania mexicana* en el estado de Veracruz infestando a las especies *Lithobates brownorum* y *Lithobates vaillanti*. La especie de anfibio que presentó los más altos niveles de infestación fue *Lithobates berlandieri* y también presentamos la variación morfológica encontrada en los especímenes analizados de *Hannemania mexicana* con la serie tipo. En el capítulo 2 reportamos por primera vez al ácaro *Hannemania hylae* y al hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* parasitando a *Tlalocohyla smithii* en la Reserva de la Biosfera Chamela Cuixmala. No encontramos ninguna asociación entre los ácaros y la presencia del hongo. Mostramos que las variables del ambiente más relacionadas a la presencia de los ácaros fueron diferentes a las del hongo. No detectamos individuos positivos a la presencia de Ranavirus sin embargo, esta investigación es la primera en analizar la presencia de Ranavirus en anfibios anuros de vida libre en México. En el capítulo 3 mediante análisis ecológicos y probabilísticos encontramos que existen asociaciones entre parásito y hospedero y entre las especies de parásitos, mostramos que el cambio de hábitat de los anfibios influye en la biodiversidad, co-ocurrencia y asociaciones que se presentan entre las especies de parásitos.

En general esta investigación contribuye con nuevos registros de parásitos presentes en diferentes especies de anfibios mexicanos, genera información acerca de los factores bióticos y abióticos que están involucrados en las infecciones parasitarias y evidencia las asociaciones parasitarias que se están presentando en anfibios mexicanos en diferentes tipos de hábitats.