



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE BIOLOGÍA
ECOLOGÍA Y MANEJO INTEGRAL DE ECOSISTEMAS

“EFECTO DEL ESTRÉS AMBIENTAL EN *Hyla arenicolor*, *Hyla eximia* Y *Spea multiplicata* DE LA SIERRA DE GUADALUPE, ESTADO DE MÉXICO”.

TESIS

POR ARTÍCULO CIENTÍFICO

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

SANDRA FABIOLA ARIAS BALDERAS

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. FAUSTO ROBERTO MÉNDEZ DE LA CRUZ

INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. JOSÉ JAIME ZÚÑIGA VEGA

FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

DR. HÉCTOR OCTAVIO GODÍNEZ ÁLVAREZ

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM

MÉXICO, CD. MX.

SEPTIEMBRE, 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.



OFICIO CPCB/845/2018

Asunto: Oficio de Jurado para Examen de Grado.

Lic. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión del Subcomité por Campo de Conocimiento de Biología Evolutiva y Sistemática del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 21 de mayo de 2018, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTORA EN CIENCIAS** de la alumna **ARIAS BALDERAS SANDRA FABIOLA** con número de cuenta **400008534** con la tesis titulada: "Efecto del estrés ambiental en *Hyla arenicolor*, *Hyla eximia* y *Spea multiplicata* de Sierra de Guadalupe, Estado de México", realizada bajo la dirección del **DR. FAUSTO ROBERTO MÉNDEZ DE LA CRUZ**:

Presidente:	DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
Vocal:	DR HIBRAIM ADÁN PÉREZ MENDOZA
Secretario:	DR. JOSÉ JAIME ZÚÑIGA VEGA
Suplente:	DR. ANIBAL HELIOS DÍAZ DE LA VEGA PÉREZ
Suplente	DR. HÉCTOR OCTAVIO GODÍNEZ ÁLVAREZ

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 19 de septiembre de 2018.


DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
COORDINADOR DEL PROGRAMA



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

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

En primer lugar quiero agradecer al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM por haberme permitido formar parte del equipo de estudiantes del Doctorado y por impulsar a la formación de jóvenes investigadores en México.

De la misma manera quiero agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo recibido para poder realizar mis estudios de Posgrado con la beca (CVU 294891) y al proyecto de PAPIIT-UNAM IN210116.

Agradezco profundamente a los miembros de mi comité tutorial, el Dr. José Jaime Zúñiga Vega y el Dr. Héctor Octavio Godínez Álvarez por sus atinados comentarios y sus minuciosas revisiones que ayudaron a enriquecer el proyecto de tesis.

Finalmente quiero expresar todo mi agradecimiento a mi tutor el Dr. Fausto Roberto Méndez de la Cruz por motivarme, apoyarme e impulsarme a continuar aportando y contribuyendo a la ciencia en el país. Le agradezco el incentivar siempre la curiosidad ante los fenómenos de la naturaleza a cada uno de sus alumnos, gracias por su paciencia y acertados comentarios acerca del proyecto de tesis y también por su amistad.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Primeramente quiero agradecer al M. en C. Felipe Correa Sánchez por todo el apoyo que me ha brindado desde que decidí estudiar el Posgrado, porque sin su valiosísimo apoyo no hubiera sido posible llevar a término este proyecto de vida.

Gracias infinitas a mi familia: mami, papi, Diego y Magaly, porque siempre han creído en mis objetivos, porque los he visto soñar conmigo, gracias por su apoyo, por estar cuando los he necesitado, por querer a mi Chago y cuidarlo durante todo este tiempo. Porque yo sé que mis logros son también de ustedes y los viven como si fueran suyos. Los amo infinitamente. Gracias a mi compañero de vida José Antonio (Toñito), por estar....

Quiero agradecer encarecidamente a todos mis exalumnos, varios de ellos ahora amigos y colegas que me estuvieron ayudando en toda la logística que involucró este trabajo de tesis doctoral, gracias por su apoyo en campo a Elisa Pamela Mendoza Argueta, Rafael Alejandro Calzada Arciniega, Raúl Gómez Trejo Pérez, Alejandra Fabiola Herrera Balcázar, Lizbeth Viridiana González Guevara y Alejandra Rangel Sánchez. Por el apoyo en los experimentos le agradezco a Manuel Casas Godoy y Jorge Daniel López Hernández. Gracias a todos porque con ustedes inicié la etapa como formadora de profesionistas, por permitirme aportar en cada uno poco o mucho del conocimiento que yo ya tenía y que ahora puedo ver en sus metas alcanzadas, pero además les agradezco mucho poder seguir compartiendo momentos con ustedes ahora como amigos, ya sea en proyectos de vida o de trabajo o ambos.

Gracias a los demás alumnos que me han dejado guiarlos y conservar su amistad: Marlen, Erick Villegas Palma, Kary, Rosita, a todos ustedes que han crecido junto conmigo en el conocimiento de los anfibios, especialmente con los ajolotes.

Diego Chaparro, gracias por tu enorme amistad, por estar siempre a mi lado, por ser un gran compañero, un hermano y un amigo como pocos, porque vamos juntos en el camino, desde los inicios de nuestra formación hasta ahora ser formadores. Te quiero muchísimo amigo.

Rulis y dotore, saben que los adoro, son mis compañeros, pero sobretodo mis amigos. De verdad valoro mucho su amistad, los grandes ratos que hemos pasado juntos riéndonos y aprendiendo de cada uno de nosotros. Gracias por todo su apoyo y por creer en mí.

Gracias a todos mis alumnos que de una u otra forma me motivan a esforzarme más, que han estado de alguna manera durante el proceso de este trabajo, gracias por brindarme su confianza, su amistad, su energía y entusiasmo, momentos súper divertidos y de muchas aventuras en campo, los quiero retharto. Mis muchachos, mis amigos: en orden de aparición en el laboratorio César Cortés, Clever Ramírez, Alberto Acosta (Ray), Gaby Esquivel, César Aldebarán González, Omar Icaza, Edwin Valerio, Nicté Há Soriano, Braulio Sánchez, Sam Vergara y Jorge Torres. Especial mención para Gaby y Aldebarán por su apoyo logístico en la presente.

Por último agradezco a la Máxima Casa de Estudios, la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por todo lo que me ha brindado, me ha dado conocimiento, amistades valiosas, apoyos económicos, recreación, trabajo, superación académica, ¿qué más se puede pedir?

DEDICATORIA

A ti, mi niño hermoso
Al que amo tanto,
Por el que doy todo...
A ti, Santiago Isaac.



ÍNDICE

	Pág.
Resumen	1
Abstract	3
Introducción	
• Estrés	5
• Fenología	8
• Especies de estudio	8
• Relación anfibio-temperatura	9
Capítulo 1.	
• Fenología de tres especies de anuros de Sierra de Guadalupe, Estado de México.	11
Capítulo 2.	
• Relaciones térmicas y temperaturas preferidas en <i>Dryophytes arenicolor</i> y <i>Spea multiplicata</i> (Amphibia: Anura) en un bosque templado del centro de México.	35
Capítulo 3.	
• Efecto del estrés ambiental por radiación UV-B y temperatura en tres anuros de Bosque Templado.	53
Capítulo 4.	
• Efecto de la temperatura y deshidratación en tres anuros de Bosque Templado.	68
Discusión general y conclusiones	82
Literatura citada	84

RESUMEN

Diversos factores ambientales inducen estados de estrés en organismos animales propiciando manifestaciones fenotípicas como deformaciones anatómicas. Es por ello que recientemente se estudian las distintas respuestas que genera el “estrés ambiental”, definiéndose éste como el proceso mediante el cual los eventos ambientales o fuerzas, llamadas estresores, amenazan la existencia de un organismo y su bienestar, a través del cual el organismo responde. Los principales tipos de estrés ambiental se han categorizado de la siguiente manera: estrés hídrico, estrés por temperatura, estrés por radiación ultravioleta (UV). Cada tipo de estrés provoca respuestas negativas en los organismos a nivel individual y poblacional impactando de diferente forma según el tiempo de exposición. Sin embargo, cuando dos o más tipos de estrés se conjuntan pueden dar pie a consecuencias mayores que afectarían incluso a nivel comunidad. Los aspectos biológicos y ecológicos de una gran parte de los anuros mexicanos siguen siendo desconocidos, por lo que cada característica que se estudia sobre ellos genera conocimiento sobre sus hábitos y nos ayuda a establecer el papel que juega en su entorno. *Hyla (Dryophytes) arenicolor*, *Spea multiplicata* e *Hyla (Dryophytes) eximia (eximius)* son especies ampliamente distribuidas que aparentemente coexisten en gran parte del Altiplano mexicano, sin embargo, sus estrategias reproductivas acuáticas son diferentes. En el presente trabajo se analizaron cuatro principales aspectos de este ensamble de anuros los cuáles podrían generar respuestas a otros anuros con hábitos similares y estrategias reproductivas ante el estrés ambiental presente en la actualidad. Para la primera parte se registraron datos en campo durante cinco años para conocer la distribución espacio-temporal, abundancia, desarrollo larval y la implicación que factores climáticos pudieran tener con estas especies, mediante monitoreo en campo y por datos climatológicos mostrando que los años con mayor retraso en lluvias repercuten en la aparición y período de permanencia en la zona. Esto además aceleró el período larval de *S. multiplicata*, mientras que en las otras dos especies no, esto puede generar problemas en sus poblaciones, dado que se acortan los tiempos de reproducción, migración y los ciclos de vida desde renacuajo hasta adulto pueden comprometerse. Para la segunda parte se registraron sus temperaturas corporales (tb), las temperaturas ambientales (ta y ts) así como sus temperaturas operativas (to). En el laboratorio se registró su temperatura preferida (tset). Los resultados mostraron que *H. arenicolor* fluctúa entre la tigmotermia y la heliotermia, mientras que *S. multiplicata* se inclina hacia la tigmotermia. A pesar de que se mostraron diferencias entre las especies estudiadas, ambas prefirieron temperaturas corporales similares en el campo, quizás porque están expuestas a los mismos factores ambientales y ambas toleran la exposición directa, gracias a la estructura de su piel. Sin embargo, ambas especies están en constante estrés debido a la fragmentación del hábitat, la contaminación y el estrés ambiental. De modo que, tienen que solventar sus requerimientos invirtiendo menor o mayor energía para termorregular. En la tercera parte se analizó el efecto de la radiación y temperatura sobre éstas especies, debido a que el incremento de éstos puede ser altamente negativo sobretudo en áreas abiertas donde la radiación es más directa causando daños a nivel individuo y al generarse más calor en las puestas, se induce a una eclosión y desarrollo temprano o bajo éxito en la sobrevivencia. Las especies con diferencias en estrategias y hábitos podrían o no, contrarrestar esto. Así que el determinar el efecto de la temperatura y radiación UV-B en larvas de anuros con requerimientos y fenología diferenciales resulta relevante para realizar aproximaciones

dirigidas a otras especies con similar comportamiento y estrategias reproductivas. Para ello se obtuvieron larvas de cada especie y se realizaron experimentos con un método modificado de Blaustein *et al.*, 1998, en lo que se refiere a la temperatura se realizó un experimento similar bajo tres diferentes temperaturas. Los resultados obtenidos muestran diferencias significativas entre las tres especies de estudio, así como efectos negativos en la sobrevivencia para la especie con hábitos semiacuáticos (*Hyla eximia*), mientras que la de hábitos fosoriales (*Spea multiplicata*) resulta menos afectada, el tiempo a la metamorfosis también mostró diferencias entre tratamientos y especies, la cual se aceleró a mayor temperatura y radiación UV-B. Las tres especies presentan afectaciones; sin embargo, éstas parecen incrementar cuando la piel es más delgada y la especie está más ligada a los ambientes acuáticos. En la última parte se observó el efecto de la temperatura y deshidratación en las tres especies, puesto que tienen efectos fisiológicos en varias conductas de los anfibios, tal es el caso de la locomoción, la cual puede verse afectada o modificada en su totalidad. Con el reciente cambio climático se han presentado fluctuaciones continuas en temperatura, humedad y estacionalidad, lo que puede ser un grave problema para especies de anuros que involucran hábitos y estrategias ligadas a estos factores. Al analizar el efecto de la temperatura y la humedad en la locomoción de las tres especies de anuros se puede conocer el grado de afectación a éstos. Para ello, se obtuvieron 15 organismos adultos de cada especie y se realizaron experimentos de acuerdo con el método de Preest & Pough, 2003. Los resultados muestran diferencias significativas entre las tres especies, así como efectos negativos en las respuestas locomotoras y de Punto Crítico de Actividad para *H. eximia* de hábitos semiacuáticos, mientras que *H. arenicolor* (semiterrestre), tiene menor afectación; por otra parte, *S. multiplicata* (fosorial) resulta la especie que más pronta recuperación presenta en cuanto al Punto Crítico de Actividad. Esto puede brindar un panorama de posibles especies susceptibles ante cambios climáticos ineludibles.

ABSTRACT

Several environmental factors induce stress in animal organisms causing phenotypic manifestations such as anatomical deformations. That is why we recently studied the different responses generated by "environmental stress", defining it as the process by which environmental events or forces, called stressors, threaten the existence of an organism and its welfare, through which the organism responds. The main types of environmental stress have been categorized as follows: water stress, temperature stress, ultraviolet (UV) radiation stress. Each kind of stress provokes negative responses in organisms at the individual and population level, impacting differently according to the exposure time. However, when two or more types of stress come together they can lead to major consequences that would affect even at the community level. The biological and ecological aspects of a large part of the Mexican anurans remain unknown, so that each feature studied about them generates knowledge about their habits and helps us to establish the role they play in their environment. *Hyla (Dryophytes) arenicolor*, *Spea multiplicata* and *Hyla (Dryophytes) eximia (eximius)* are widely distributed species that apparently coexist in much of the Mexican Altiplane, however, their aquatic reproductive strategies are different. In the present work four main aspects of this assemblage of anurans were worked on, which could generate responses to other anurans with similar habits and reproductive strategies to the present environmental stress. For the first part, data were recorded in the field for five years to know the spatio-temporal distribution, abundance, larval development and the implication that climatic factors could have with these species, through field monitoring and climatological data showing that the years with the highest delay in rains have an impact on the appearance and period of stay in the area. This also accelerated the larval period of *S. multiplicata*, while in the other two species no, this can generate problems in their populations, since shortened reproduction times, migration and life cycles from tadpole to adult can be compromised. For the second part, their body temperatures (tb), environmental temperatures (ta and ts) as well as their operating temperatures (to) were recorded. In the laboratory, its preferred temperature (tset) was recorded. The results showed that *H. arenicolor* fluctuates between tigmothermia and heliothermia, whereas *S. multiplicata* leans towards tigmothermia. Although there were differences between the species studied, both preferred similar body temperatures in the field, perhaps because they are exposed to the same environmental factors and both tolerate direct exposure, thanks to the structure of their skin. However, both species are in constant stress due to habitat fragmentation, pollution and environmental stress. So, they have to solve their requirements by investing less or more energy to thermoregulate. In the third part, the effect of radiation and temperature on these species was analyzed, because the increase of these can be highly negative especially in open areas where radiation is more direct causing damage at the individual level and generating more heat in the egg laying, it is induced to a hatching and early development or low success in survival. Species with differences in strategies and habits may or may not counteract this. So, determining the effect of temperature and UV-B radiation on larvae of anurans with differential requirements and phenology is relevant to perform approximations directed to other species with similar behavior and reproductive strategies. To accomplish this, larvae of each species were obtained and experiments were carried out with a modified method by Blaustein et al., 1998. In terms of temperature, a similar experiment was carried out under three different temperatures. The results show

significant differences between the three species of study, as well as negative effects on survival for the species with semi-aquatic habits (*Hyla eximia*), while that of fossorial habits (*Spea multiplicata*) is less affected, time to metamorphosis also showed differences between treatments and species, which accelerated at higher temperature and UV-B radiation. The three species have affectations; however, they seem to increase when the skin is thinner and the species is more linked to aquatic environments. In the last part the effect of temperature and dehydration was observed in the three species, since they have physiological effects in several behaviors of amphibians, such is the case of locomotion, which can be affected or modified in its entirety. With the recent climate change there have been continuous fluctuations in temperature, humidity and seasonality, which can be a serious problem for anuran species that involve habits and strategies linked to these factors. When analyzing the effect of temperature and humidity on the locomotion of the three species of anurans, the degree of affectation to them can be known. To this end, 15 adult organisms of each species were obtained and experiments were carried out according to the method of Preest & Pough, 2003. The results shown significant differences between the three species, as well as negative effects on the locomotor and Critical Activity Point responses for *H. eximia* of semiaquatic habits, while *H. arenicolor* (semi-terrestrial), has less affectation; on the other hand, *S. multiplicata* (fossorial) is the species that has the fastest recovery in terms of the Critical Activity Point. This can provide an overview of possible susceptible species in the face of unavoidable climatic changes.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe una gran preocupación por el declive global en las poblaciones de anfibios debido a que las últimas décadas registraron un notable incremento en la pérdida o disminución de estas especies (Blaustein & Wake, 1990; Phillips, 1990; Weyrauch & Grubb, 2004), esto aunado a la contaminación y los cambios en factores abióticos tales como clima, precipitación, entre otros, ha llevado a la formulación de preguntas y posibles respuestas del porqué de este fenómeno. Una perspectiva posible es el “estrés ambiental” al que están sometidas las poblaciones de anfibios a lo largo de los últimos años, tal es el caso del cambio de uso de suelo por causas antropogénicas (Kerr and McElroy, 1993), desecación de cuerpos de agua por efecto de la temperatura, contaminación de sistemas acuáticos, fenómenos naturales, entre otros.

Estrés.

A mediados de los años 90's se consideraba que el “estrés” era todo aquello que impone demandas de ajuste a un individuo, mientras que las reacciones de estrés o respuestas conductuales del proceso se referían a las demandas ambientales, eventos o fuerzas. Además, se resaltaba que el ambiente podía ser recurso de satisfacción pero también de irritación y molestia, y frecuentemente puede ser ambos a la vez (Halpern, 1995).

También se ha definido como “estrés” al conjunto de respuestas bioquímicas o fisiológicas que definen un estado particular del organismo diferente al observado bajo un rango de condiciones óptimas (Basurto-Sotelo et al., 2008). Diversos factores ambientales inducen estados de estrés en organismos vegetales y animales propiciando manifestaciones fenotípicas como deformaciones anatómicas. Es por ello que recientemente se ha comenzado a estudiar las distintas respuestas que genera el “estrés ambiental”, definiéndose éste como el proceso mediante el cual los eventos ambientales o fuerzas, llamadas estresores, amenazan la existencia de un organismo y su bienestar, a través del cual el organismo responde a la amenaza (Baum et al., 1982).

El proceso de adaptación a los estresores, en realidad es una actividad cotidiana, en algunos casos los cambios son menores y es posible adaptarse a ellos incluso sin conciencia; no obstante, en otras ocasiones, los cambios pueden ser severos y claramente amenazadores (Mejía, 2011). Numerosos trabajos realizados en peces, reportan mediciones de las respuestas primarias así como cambios en la adecuación individual como indicadores de estrés que, cuando van más allá de la tolerancia, ocasionan la muerte o en casos menos severos, afectan el crecimiento (McCormick *et al.*, 1998), predisponen a enfermedades (Robertson *et al.*, 1987, Kaatari & Tripp, 1987) o imposibilitan la resistencia a nuevas situaciones de estrés (Schreck, 2000).

Sin embargo, los efectos del estrés a nivel poblacional, aunque difíciles de comprobar, son los que tienen mayor relevancia ecológica. Estos se manifiestan por la reducción en los procesos de desove (Billard *et al.*, 1981, Hontela, 1997), pobre calidad de la progenie y disminución de la población (Schreck *et al.*, 2001), entre otros aspectos. Múltiples factores ambientales inducen estados de estrés.

Los principales tipos de exposición a estrés ambiental en organismos vegetales y animales se han categorizado de la siguiente manera:

- Estrés hídrico.
- Estrés por alta y baja temperatura.
- Estrés por alta y baja irradiación.
- Estrés por alta y baja radiación ultravioleta (UV).
- Estrés por salinidad.
- Estrés nutrimental.
- Estrés por toxicidad de metales pesados.

Cada uno de los tipos de estrés provocan de manera general, respuestas negativas en los organismos a nivel individual y poblacional (Schreck *et al.*, 2001), impactando de diferente forma según el tiempo de exposición y el tipo de estrés. Sin embargo, cuando dos o más tipos de estrés se conjuntan pueden dar pie a consecuencias mayores que afectarían incluso a nivel de la comunidad (Hader *et al.*, 2007).

En lo que se refiere al estrés provocado por la Radiación UV-B, se considera que es uno de los factores de estrés que ha venido cobrando fuerza desde hace unas décadas, en dónde muchos organismos acuáticos y semiacuáticos como los anfibios, se han visto expuestos, lo que les ha provocado cuantiosos daños, entre los que se pueden mencionar; daño celular, muerte de las puestas y embriones, alteraciones en el desarrollo, alteraciones anatómicas, etc. (Belden & Blaustein, 2002). Esto además, repercute de manera significativa a nivel de interacciones ecológicas puesto que muchas especies acuáticas o semiacuáticas como en este caso los anfibios, juegan un papel importante dentro de las cadenas tróficas actuando como depredadores tope o como presas (Hader *et al.*, 2007).

Una de las características que acompaña a la degradación de los hábitats es la disminución del volumen de agua en los sistemas acuáticos y por ende el aumento de radiación UV-B y de temperatura tanto del agua como del ambiente (Blaustein, *et. al*, 2003), de ahí que algunos estudios han encontrado una asociación entre la presencia y riqueza de anfibios en hábitats con áreas inundadas (Hecnar & M'Closkey, 1997; Knutson *et al.*, 1999; Vallan, 2000) así como con una óptima calidad de agua. Durante la última década se ha incrementado la valoración de los hábitats acuáticos los cuales son fuertemente afectados por el paisaje terrestre circundante (Jansson *et al.*, 2007). Los ecosistemas terrestres proveen de un importante subsidio energético a los cuerpos de agua y una serie de refugios y protección a la exposición de radiación UV-B, creando además un mosaico de microclimas y su alteración puede causar graves consecuencias con base en características físicas y químicas afectando a las comunidades acuáticas y semiacuáticas (Allan, 2004).

Dentro de los principales puntos a entender con respecto a este tema, es la relación que existe entre los anfibios y el hábitat que explotan (Fellers and Drost, 1993), siendo que los ambientes naturales han sido rápidamente degradados. Las tasas de cambio, por ejemplo de temperatura se han ido acelerando, lo cual genera mayor estrés y que comparado con otros vertebrados, los anfibios tienen capacidades relativamente pobres de dispersión dado que sus movimientos son limitados por restricciones fisiológicas de acuerdo a diversos requerimientos del ambiente (Weyrauch & Grubb, 2004).

La Sierra de Guadalupe en el Estado de México, constituye una de las áreas naturales protegidas más importantes de la zona centro del país dado el impacto positivo que tiene en los mantos freáticos del Valle de México (Cedillo et al., 2007), puesto que mantiene una buena extensión territorial de vegetación típica de zonas templadas y resulta una zona ideal para estudiar estas condiciones que afectan el desarrollo y la sinergia entre las distintas especies de anfibios. Además, por otro lado muestra algunas problemáticas ambientales como el impacto de la zona urbana aledaña a esta área, lo cual probablemente acrecienta el aumento de T° y UV-B. Dentro del ANP, se encuentra un ensamble de anfibios el cual ya ha sido registrado anteriormente (Méndez de la Cruz et al., 1992), dichas especies tienen un intervalo de distribución alto en el país, éstas son: *Hyla arenicolor*, *Hyla eximia* (ahora género *Dryophytes*) y *Spea multiplicata*, los cuales coexisten manteniendo diversas relaciones ecológicas dentro del gradiente acuático y terrestre que habitan, además de mostrar diversas estrategias reproductivas (desde huevos totalmente acuáticos hasta oportunistas) que se verían afectadas de diferente manera de acuerdo al estrés ambiental; sin embargo, no se han documentado las posibles afectaciones y actualmente estas especies se encuentran sometidas a diversos factores ambientales que han mermado sus poblaciones y que posiblemente han extirpado del área a algunas de ellas.

Es por ello que esta zona nos presenta una oportunidad única para evaluar la importancia de las condiciones que paulatinamente han ido cambiando en el ambiente (temperatura y radiación UV-B) anteriormente mencionados y su efecto no solo en la presencia y distribución de este ensamble de anfibios sino en el desarrollo y sobrevivencia intraespecíficos. Del mismo modo, ofrecería respuestas a condiciones futuras de estrés ambiental de acuerdo a las características propias de las especies las cuales podrían verse afectados o no. Por consiguiente, lo observado en campo y los experimentos llevados a cabo en laboratorio proporcionan aspectos que pueden tomarse en cuenta para fines de conservación no solo de las especies de anfibios, sino de otras tantas, dadas las escalas en las que influyen.

Organismos semiacuáticos como los anfibios necesitan mayor atención dada la heterogeneidad espacial de los hábitats que utilizan para vivir. Muchos de ellos parecen estar restringidos por limitantes bióticos tales como temperatura e hidoperíodo, principalmente en los estadios larvarios. Dichos factores no solo limitan el hábitat donde se encuentren, sino que repercuten en cuanto a la viabilidad de una población en ese lugar (Warner et al., 1993; Dayton & Fitzgerald, 2001).

Este taxa constituye el mayor grupo de organismos semiacuáticos y con frecuencia ofrecen respuestas a escalas múltiples constituyendo una importante función a nivel paisajístico (Davic & Welsh, 2004). Permiten un considerable flujo de energía y biomasa entre ecosistemas terrestres y acuáticos y se enlistan como especies clave dentro del entorno que habitan (Gibbons et al. 2006, Whiles et al. 2006). Además de formar complejas interacciones ecológicas entre las especies de anfibios que cohabitan y sus presas o depredadores.

FENOLOGÍA

En general, la distribución local de muchos anfibios se limita constantemente por las restricciones que demandan los estadios larvales acuáticos (Skelly et al. 1999). Los anuros, orden al cual pertenecen las especies de estudio, gastan la primera parte de su vida como herbívoros acuáticos y la última parte como carnívoros terrestres. El estadio larval está dedicado solamente al crecimiento, mientras que en estado adulto lo más importante es la reproducción, dispersión y sobrevivencia en las diversas condiciones climáticas (Wilbur, 1980).

En este caso, las especies de estudio, aunque no difieren demasiado filogenéticamente, al menos en dos casos (*Hyla arenicolor* e *Hyla eximia*), si lo hacen en su fenología y requerimientos. A continuación una breve descripción de ellas:

ESPECIES DE ESTUDIO.

Hyla arenicolor Cope (1886) (ahora género *Dryophytes*)

Ranita de las rocas

Esta especie se caracteriza por presentar la piel dorsal con tubérculos y presencia de ventosas agrandadas en la punta de los dedos. La talla más grande la presentan algunos machos donde llegan a alcanzar unos 57mm de LHC (Longitud hocico-cloaca). El vientre es ligeramente granular. El tímpano tiene un medio de la anchura del ojo aproximadamente y tiene un pliegue de piel en su orilla superior. Dedos de las manos sin membrana interdigital y los de los pies la presentan en un medio de su longitud. En machos la base del pulgar es mucho más gruesa. La coloración es generalmente gris o café opaco, con incipientes manchas o puntos oscuros. Las extremidades están bandeadas, el vientre es blanco, pero en vida “la ingle, las superficies anteriores y posteriores de los muslos y las superficies ventrales de las extremidades posteriores son naranja-amarillo”

Su distribución va desde las montañas al sur de Colorado, oeste de Nuevo México y sur de Arizona extendiéndose hacia el sur hasta Guerrero y norte de Oaxaca, a altitudes de 300-3000 msnm.

Se le encuentra cerca de arroyos, en paredes rocosas, desde desiertos y pastizales con mezquites, hasta bosques de pino y pino-encino.

Hyla eximia Baird (1854) (ahora género *Dryophytes* especie *eximius*)

Ranita de montaña

Es una especie pequeña, con una LHC de 36mm para los machos y de 45mm para las hembras. Membrana axilar ausente, extremidades moderadamente cortas. Sin membrana interdigital en las manos y en los dedos de los pies la membrana cubre 2/3 de su longitud. La coloración es verde brillante, con una raya lateral café oscura a lo largo del lado, desde detrás del ojo hasta la ingle. Esta raya está bordeada por encima y frecuentemente por debajo con orillas blancas.

La superficie dorsal de cuerpo y extremidades es lisa, con el abdomen muy granular. El tímpano es pequeño con un diámetro que va del 47% a 59% del diámetro del ojo.

Su distribución va del sur de Durango, Nayarit, Zacatecas, Jalisco, Aguascalientes, Michoacán, México, Morelos, Guerrero, Puebla, Tlaxcala, Veracruz, Hidalgo, Querétaro, Guanajuato, San Luis Potosí, suroeste de Tamaulipas y Distrito Federal.

Ocupa principalmente bosques de pino-encino a altitudes entre 900 y 3400 msnm.

Spea multiplicata (Cope, 1863)

Sapo de espuelas mexicano.

Es una especie de talla pequeña a mediana. Tienen la piel de la parte superior conspicuamente verrugosa, cubierta por tubérculos grandes, cabeza plana o ligeramente cóncava entre las órbitas; palmas lisas, dedos de las manos sin membrana interdigital; en machos, dedos internos de las manos agrandados, cornificados y ennegrecidos; plantas de los pies lisas excepto por un tubérculo metatarsal interno grande y negro aproximadamente tan ancho como largo.

Su distribución es amplia, extendiéndose desde la mayor parte de Nuevo México hacia el oeste de Arizona; hacia el este, hasta el oeste de Texas y hacia el sur hasta el norte de Sonora y a través del desierto de Chihuahua, hasta el eje Transvolcánico; también habita desde la Sierra Madre Occidental del centro-oeste de Chihuahua hacia el sur hasta la región montañosa de Oaxaca.

El hábitat típico son las regiones semiáridas de desierto de Chihuahua hasta bosques de pino-encino.

REPARTO ESPACIO-TEMPORAL DEL RECURSO.

Aunque las tres especies son características de observarse en la época lluviosa, suelen emerger en diferentes tiempos, cuando ciertos factores o características se encuentran en el ambiente. La mayoría de la ecología larvaria de anfibios se puede generalizar en un gradiente, con especies bien establecidas para coexistir, con depredadores y competidores que cohabitan en las charcas temporales. Por lo que factores abióticos como el hidropériodo y factores bióticos como las interacciones trabajan en un sistema complejo de trade-offs que influyen en la habilidad de las larvas y el éxito de la metamorfosis (Woodward 1982b, 1983, Skelly 1995, McDiarmid and Altig 1999); características que son importantes en los requerimientos de cada una de las especies.

RELACIÓN ANFIBIO-TEMPERATURA.

En organismos ectotermos, la temperatura ambiental tiene gran influencia en el uso y asimilación de la energía y en la manera de obtener recursos e interactuar con otros organismos (Bennet, 1990). Esto a su vez repercute en diversos aspectos relacionados a la historia de vida de los mismos. Algunos estudios han registrado que la temperatura tiene efectos fisiológicos en varias conductas de los anfibios, tal es el caso de la alimentación y la actividad que pueden verse afectadas o modificadas en su totalidad (Lillywhite, et al., 1973; Katz, et al., 1997; Wells, 2007).

El reciente cambio climático ha traído consigo fluctuaciones continuas en el clima, lo que ha provocado que ciertos ciclos de lluvias se vean alterados (Martínez, *et al.*, 2009).

Sin embargo, algunos anfibios tienen la capacidad de regular su temperatura corporal, moviéndose entre microhábitats con diferentes temperaturas (Sinsch, 1984). Esto les permite seleccionar las temperaturas óptimas para su buen desarrollo y crecimiento y evitar de este modo, las temperaturas críticas para ellos.

Como parte de este trabajo, el capítulo dos aborda la importancia de conocer cómo se comportan las especies de estudio en cuanto a su biología termorreguladora, es decir, las temperaturas en las que ellos se desenvuelven y que prefieren, para de este modo, considerar más adelante los grados de afectación que esta variable (temperatura) puede desencadenar en ellos.

CAPÍTULO 1

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25

Fenología de tres especies de anuros de Sierra de Guadalupe, Estado de México.

Sandra Fabiola Arias-Balderas^{1,2} and Fausto Roberto Méndez de la Cruz^{2*}

1 Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad
Universitaria, México D.F. C.P. 04510. biolsarias@gmail.com

2 Departamento de Zoología, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de
México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, México D.F. México, C.P. 04510.

faustomendez6@gmail.com*

26 **Abstract.**

27 Biological and ecological aspects of a large part of the Mexican anurans remains unknown,
28 so every feature that is studied about them generates knowledge about their habits and helps
29 us to establish the role that plays in their environment. *Hyla arenicolor*, *Spea multiplicata*
30 and *Hyla eximia* are widely distributed species that apparently coexist in much of the
31 Mexican Altiplane, however, their aquatic reproductive strategies are different. In the
32 present work field data were recorded for five years to know the spatio-temporal
33 distribution, abundance, larval development and the implication that climatic factors could
34 have with them, showing that indeed the years with the greatest delay in the rainfall
35 repercussions In the appearance and the period of permanence in the zone. This can also
36 accelerate the larval period in the case of *S. multiplicata*, however, in the other two species
37 it is not, and can cause problems in the populations of these, since shortening the
38 reproduction and migration times and the cycles of Life from tadpole to adult can
39 compromise. It is necessary to know more about the ecology of the species of Mexican
40 anurans, which are giving us possible answers of what happens not only at the local level,
41 but at the regional level.

42 **Keywords:** amphibians, environmental variables, presence, behavior, larval cycle.

43 **Resumen.**

44 Aspectos biológicos y ecológicos de gran parte de los anuros mexicanos se desconocen, por
45 lo que cada característica que se estudia de ellos genera conocimiento de sus hábitos y
46 ayuda a establecer el papel que juega en su entorno. *Hyla arenicolor*, *Spea multiplicata* e
47 *Hyla eximia* son especies con una amplia distribución y coexisten en gran parte del
48 Altiplano Mexicano, sin embargo, mantienen estrategias reproductivas acuáticas diferentes.
49 En el presente trabajo se registraron datos en campo durante cinco años para conocer la
50 distribución espacio-temporal, abundancia, desarrollo larval y la implicación que factores

51 climáticos pudieran tener con estas especies, mediante monitoreo en campo y por datos
52 climatológicos mostrando que los años con mayor retraso en lluvias repercuten en la
53 aparición y período de permanencia en la zona. Esto además aceleró el período larval de *S.*
54 *multiplicata*, mientras que las otras dos especiesno, esto puede generar problemas en sus
55 poblaciones, dado que se acortan los tiempos de reproducción, migración y los ciclos de
56 vida desde renacuajo hasta adulto pueden comprometerse. Resulta necesario conocer más
57 sobre la ecología de los anuros mexicanos, los cuales nos están brindando posibles
58 respuestas de lo que sucede no solo a nivel local, sino a nivel regional.

59 **Palabras clave:** anfibios, variables ambientales, presencia, comportamiento, ciclo larval.

60

61 **Introducción:**

62 En general, la distribución local de muchos anfibios se limita constantemente
63 por las restricciones que demandan los estadios larvales acuáticos (Skelly et al. 1999). Los
64 anuros, orden al cual pertenecen las especies de estudio, gastan la primera parte de su vida
65 como herbívoros acuáticos y la última parte como carnívoros terrestres. El estadio larval
66 está dedicado solamente al crecimiento, mientras que en estado adulto lo más importante es
67 la reproducción, dispersión y sobrevivencia en las diversas condiciones climáticas (Wilbur,
68 1980).

69 Se ha observado que muchos anfibios de zonas templadas migran cada año a
70 estanques para la reproducción y cría. A menudo los ambientes templados y mediterráneos
71 presentan un período corto para la reproducción (Salvador y Carrascal, 1990). El comienzo
72 y la duración de este período se ve influido por factores diversos como la precipitación y
73 temperatura (Salthe y Mecham, 1974; Semlitsch, 1985), así como por factores bióticos,
74 tales como la competencia intra e interespecífica (Wilbur, 1980; Crump, 1982) que a
75 menudo actúan de maneras complejas afectándoles en sobrevivencia, desarrollo larval y

76 metamorfosis. (Wilbur, 1987; Brockelman, 1969; Wilbur y Collins, 1973; DeBenedictis,
77 1974).

78 Debido a que con frecuencia muchas especies de anfibios se reproducen en el
79 mismo estanque, algunos utilizan la estrategia de segregación temporal para evitar la
80 competencia y la presión de depredación (Blair, 1961; Wilbur, 1980; 1987). Las especies
81 dividen el hábitat acuático en el espacio o el tiempo para el apareamiento, reproducción y
82 desarrollo larval ajustando el tiempo de acuerdo a estas condiciones y a los recursos
83 existentes en el sitio (Wilbur, 1980).

84 Las condiciones en los hábitats acuáticos entonces influyen fuertemente en la
85 duración de la fase larvaria de anfibios, la cual puede durar semanas o incluso años
86 dependiendo de la especie (Werner, 1986; Alford y Harris, 1988). Aunque el tiempo y la
87 talla en la metamorfosis son rasgos de historia de vida flexibles, la duración mínima y
88 máxima durante este período son generalmente delimitadas por las especies (Wilbur y
89 Collins, 1973; Smith, 1987; Alford y Harris, 1988). En ambientes acuáticos agrestes o de
90 corta duración, las larvas se transforman de forma rápida y con un tamaño pequeño debido
91 al secado rápido de los estanques, a los altos niveles de competencia o depredación. Sin
92 embargo, bajo condiciones favorables, las larvas pueden posponer la metamorfosis y se
93 benefician con un mayor crecimiento y gran tamaño cuando ocurre ésta (Alford, 1999).
94 *Hyla arenicolor*, *Hyla eximia* y *Spea multiplicata* son especies que a menudo pueden
95 observarse en la época lluviosa en sitios de Bosques templados, sin embargo, suelen
96 emerger en diferentes tiempos. La mayoría de la ecología larvaria de anfibios se puede
97 generalizar en un gradiente, con especies bien establecidas para coexistir, con depredadores
98 y competidores que cohabitan en las charcas temporales. Por lo que factores abióticos como
99 el hidroperíodo y factores bióticos como las interacciones trabajan en un sistema complejo
100 de costos-beneficios que influyen en la habilidad de las larvas y el éxito de la metamorfosis

101 (Woodward 1982b, 1983, Skelly 1995, McDiarmid y Altig 1999). Por lo que el determinar
102 la distribución espacio-temporal de estas tres especies resulta importante a fin de distinguir
103 los requerimientos de cada una de ellas. Además en el presente trabajo se examina la
104 posible influencia de los factores ambientales tales como temperatura, precipitación y
105 humedad en el inicio y termino de la reproducción y en la presencia o ausencia de las
106 especies.

107 **Material y Método:**

108 Se estudiaron las poblaciones de tres especies de anuros, *Hyla arenicolor*, *Hyla*
109 *eximia* y *Spea multiplicata* en dos estanques y una presa a partir de mayo de 2008 a
110 noviembre de 2012. El área de conservación consta de alrededor de 7000 ha y es el Área
111 Natural Protegida “Sierra de Guadalupe” ubicada en el Estado de México, se encuentra
112 representada por especies vegetales de *Quercus deserticola*, *Q. rugosa* y otras especies
113 como son: huizache (*Acacia farnesiana*), tepozán (*Buddleja americana*), cuajilote
114 amarillo (*Bursera sp.*) y *Opuntia imbricata*, *O. lasiacantha* y *O. streptacantha*. Los
115 estanques se encuentran rodeados de Bosque de encino y matorral xerófilo, las lagunas
116 están a menos de 1ha entre una y otra. Uno de los estanques tiene un hidroperíodo casi
117 permanente, mientras que los demás se secan en su mayoría durante el invierno y
118 primavera. En los sitios se registraron datos de presencia de las especies, fecha, sexo, grupo
119 de edad, así como las temperaturas del aire y del agua, mientras que a la par se compilaron
120 datos de humedad relativa y precipitación por medio de la estación meteorológica de la
121 zona (Sistema de Monitoreo Atmosférico de la Ciudad de México, Sierra de Guadalupe).

122 Una vez obtenidos los datos por año y por mes de cada especie, así como con
123 las variables ambientales (temperatura, humedad y precipitación), se procedió a analizar la
124 presencia anual de cada una, la distribución en espacio-tiempo, la proporción de sexos y el
125 desarrollo larvario hasta la metamorfosis por registros periódicos en la zona de estudio. Se

126 realizaron Análisis de Varianza (ANDEVA) para conocer si existían diferencias entre las
127 especies con respecto a desarrollo larvario, meses de aparición y actividad, mientras que
128 para conocer diferencias con respecto a los años de muestreo se realizaron t-student.

129

130 **Resultados:**

131 Se obtuvieron 1328 registros totales de las tres especies contando metamorfos
132 (crías), jóvenes y adultos, siendo *S. multiplicata* la que obtuvo el mayor número de
133 registros (1060), siguiéndole *H. arenicolor* con 180 registros y la menos abundante fue *H.*
134 *eximia* con 88 registros. En lo que se refiere a la distribución espacio- tiempo los resultados
135 no mostraron diferencias en cuanto a la ocupación de las charcas ($P = 0.594$) ya que éstas
136 fueron ocupadas indiscriminadamente por las tres especies, no obstante, se evidenció que
137 éstas se encuentran ligadas a las primeras lluvias constantes. Es así que los años 2008 al
138 2010 se vieron mayormente favorecidos con la presencia y el período de duración de las
139 tres especies, mientras que los años 2011 y 2012 el período de permanencia de las especies
140 fue mucho menor, en el caso de *H. arenicolor* en el 2011 solo permaneció dos meses a
141 diferencia de los cuatro a cinco meses que estuvo presente en los otros años y en el caso de
142 *H. eximia* su presencia se observó dos meses cada año (Fig. 1) pero se vio menguada su
143 abundancia limitándose a solo siete registros en 2011 y 2012 (tres y cuatro registros
144 respectivamente).

145 Las especies mostraron un pico de actividad que abarcó de las 5:00 a las
146 00:00h, siendo *H. arenicolor* la única que abarcó dos horarios, de las 09:00-12:00 y de las
147 17:00-00:00h mientras que *S. multiplicata* registró actividad de las 18:00-22:00h e *H.*
148 *eximia* una actividad que abarcó de las 19:00-00:00h. No obstante, no hubo diferencias en
149 el período de actividad de las especies, el Análisis de Varianza registró una ($P = 0.694$)
150 (Fig. 2).

151 La proporción de sexos también mostró diferencias entre las especies, ANOVA
152 ($P = 0.008$), y sólo en el caso de *H. eximia* y *S. multiplicata* la prueba de t-student
153 evidenció diferencias entre los sexos ($P = 0.047$ y $P = <0.001$) (Fig. 3).

154 El desarrollo larvario estuvo igualmente ligado al régimen de lluvias anual y la presencia de
155 humedad, resaltando que en los años con menor tiempo de lluvias el desarrollo larvario se
156 aceleró en *S. multiplicata*, mientras que en el resto de las especies esto no alteró el tiempo
157 de desarrollo (Fig. 4).

158 **Discusión:**

159 La distribución espacial de las especies resultó similar debido a que las
160 condiciones de las charcas les favorecieron en disponibilidad de refugios como rocas y
161 plantas; así como en abundancia de presas las cuales fueron generalmente pequeños
162 crustáceos y cladóceros (*Daphnia sp.*), también se beneficiaron con los factores abióticos
163 presentes como la profundidad (50-150cm) y pH (7-7.5) los cuales resultan óptimos para la
164 reproducción de estas especies, por lo cual no existió variación anual. En este sentido, se
165 muestra que un ambiente adecuado para las especies que habitan cuerpos de agua pequeños
166 y aislados y se encuentran inmersos en vegetación continua, resultan importantes para
167 mantener la diversidad biológica (Conner, et al., 2008). En cuanto a la temporalidad de las
168 especies se encontró que estuvo ligado a la aparición de las primeras lluvias y la presencia
169 de humedad en el ambiente y se observó que éstas acortaron su presencia en los años donde
170 la lluvia y la humedad fueron menores o tardías, sin embargo, no se observaron tendencias
171 claras de que el cambio en el clima, en este caso en el régimen de lluvias afecte la presencia
172 y reproducción de las especies coincidiendo con lo que argumenta (Beebe, 1995).

173 El período de actividad mostró ser muy similar entre las especies, sin embargo,
174 la única que registró dos picos de actividad fue *H. arenicolor* la cual no solo mostró hábitos
175 crepusculares o nocturnos, sino también diurnos, esto puede estar relacionado con las

176 características morfofisiológicas de la especie debido a que presenta la piel cubierta de
177 tubérculos que ayudan a conservarse hidratadas ya que secretan una sustancia lipídica. Las
178 especies solo se encontraron desfasadas por una hora en promedio para iniciar su actividad.
179 Sin embargo, *H. eximia* tuvo una baja notoria en su población durante los dos años que se
180 registraron con mayor retraso en las lluvias en el país.

181 La proporción de sexos cambia en cada año, sin embargo, hay años en los que
182 se pudo observar una mayor proporción de machos tal es el caso de los años 2010, 2011 y
183 2012 y probablemente esto también se haya reflejado en la baja abundancia de organismos
184 en estos años.

185 El desarrollo larvario se mantuvo muy similar durante los años de estudio,
186 excepto en *S. multiplicata* donde se observó menor tiempo en el inicio de la metamorfosis
187 durante los años donde las lluvias fueron más tardías, esto pudiendo deberse a la conducta
188 oportunista que presenta esta especie que en otros estudios ha acelerado o retardado el
189 inicio a la metamorfosis dependiendo la disponibilidad de alimento, temperatura (Buchholz,
190 2000) e incluso la temporalidad de las charcas.

191 Las diferencias entre las especies en el reparto de los recursos espacio-temporales, los
192 horarios de actividad y el desarrollo larval pueden ser muestra de las relaciones donde
193 varios rasgos o factores trabajen juntos, incluyendo el tamaño del estanque, preferencia
194 alimentaria, competencia y el riesgo a la depredación tal como lo mencionó (Buchholz,
195 2000).

196 **Agradecimientos:** El primer autor establece que este artículo es un requisito para obtener
197 el grado de Doctora en Ciencias Biológicas en el Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM
198 y le agradece al Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de
199 México y al CONACYT por la beca escolar (CVU 294891), también agradece a Elisa
200 Pamela Mendoza Argueta, Rafael Alejandro Calzada Arciniega y Raúl Gómez Trejo Pérez

201 por la ayuda en la colecta y observación de las especies en campo. Macrosystems Project
202 (NSF) and PAPIIT-UNAM IN210116.

203 **Literatura Citada:**

204 Alexander, M. A. and J. K. Eischeid. 2001. Climate variability in regions of amphibian
205 declines. *Conservation Biology* 15:930-942.

206 Alford, R. A. 1999. Ecology: resource use, competition and predation, In: Roy. W.

207 McDiarmid y R. Altig (eds.). tadpoles: The biology of anuran larvae. The University of

208 Chicago Press, Chicago. Pp. 189-214. Alford, R. A. y R. N. Harris. 1988. Effects of larval
209 growth history on anuran metamorphosis. *Am. Nat.*, 131:91-106.

210 Beebee, T. J. C. 1995. Amphibian breeding and climate. *Nature*. 374:219-220.

211 Blair, W. F. 1961. Calling and spawning seasons in a mixed population of anurans. *Ecology*
212 42:99-110.

213 Brockelman, W. Y. 1969. An analysis of density effects and predation in *Bufo americanus*
214 tadpoles.

215 Buchholz, D. R. and T. B. Hayes. 2000. Larval period comparison for the Spadefoot toads
216 *Scaphiopus couchii* and *Spea multiplicata* (Pelobatidae: Anura). *Herpetologica*. 4(56):455-
217 468.

218 Buckley, L. B. and W. Jetz. 2007. Environmental and historical constraints on global
219 patterns of amphibian richness. *Proc. R. Soc. B* 274(2007):1167–1173.

220 Carey, C., Bradford, D. F., Brunner, J. L., Collins, J. P., Davidson, E. W., Longcore, J. E.,

221 Ouellet, M., Pessier, A. P. and D. M. Schock. 2003. Biotic factors in amphibian population
222 declines. Pages 153–208. In: G. Linder, S. K. Krest, and D. W. Sparling, editors.

223 Amphibian decline: an integrated analysis of multiple stressor effects. Society of
224 Environmental Toxicology and Chemistry, Pensacola, Florida.

225 Conner, C. A., Harper, E. B. y R. D. Semlitsch. 2008. Breeding and recruitment phenology
226 of amphibians in Missouri Oak-Hickory Forests. *American Midland Naturalist*. 1(160):41-
227 60.

228 Cushman, S. A. 2006. Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: A review
229 and prospectus. *Biological Conservation*. 128 (2006): 231-240.

230 Crump, M. L. 1982. Amphibian reproductive ecology on the community ecology level. In
231 N. J. Scott (ed.), *Herpetological communities*, pp. 21-36. U.S. Fish Wild. Service, Wild.
232 Res. Rep. 13.

233 DeBenedictis, P. A. 1974. Interspecific competition between tadpoles of *Rana pipiens* and
234 *Rana sylvatica*: an experimental field study. *Ibid.* 44:129-151.

235 Denver, R. J., Nooshan, M. and M. Phillips. 1998. Adaptive plasticity in amphibian
236 metamorphosis: Response of *Scaphiopus hammondi* tadpoles to habitat desiccation.
237 *Ecology*. 79(6):1859-1872.

238 Donnelly, M. A. and M. L. Crump 1998. Potential effects of climate change on two
239 neotropical amphibian assemblages. *Climatic Change*. 39(2-3):541-561.

240 Duellman, W. E. and L. Trueb. 1986. *Biology of amphibians*. McGraw-Hill Book
241 Company. Toronto.

242 Hillman, S. S., Withers, P. C., Drewes, R.C. & S. D. Hillyard. 2009. *Ecological and*
243 *Environmental Physiology of Amphibians*. Oxford University Press. E.U.A. 469pp.

244 McDiarmid, R. W. y R. Altig. 1999. *Tadpoles the biology of anuran larvae*. University of
245 Chicago Press. 444pp.

246 Pounds, J. A. 2001. Climate and amphibian declines. *Nature*. 410(6829):639-640.

247 Pounds, J. A 2006. Widespread amphibian declines from epidemic disease driven for global
248 warning. *Nature*. 439(7073):161-167.

249 Pyron, R. A. and J. J. Wiens. 2011. A large-scale phylogeny of Amphibia including over
250 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians.
251 *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 61 (2011):543–583.

252 Salthe, S. N., y J . S. Mecham. 1974. Reproductive and courtship patterns. In B. Lofts (ed.),
253 *Physiology of the Amphibia*, pp. 309-521. Academic Press, New York.

254 Salvador, A. y L. M. Carrascal. 1990. Reproductive phenology and temporal patterns of
255 mate access in mediterranean anurans. *Journal of Herpetology*. 4 (24):438-441.

256 Semlitsch, R. D. 1985. Analysis of climatic factors influencing migrations of the
257 salamander *Ambystoma talpoideum*. *Copeia* 1985(2):477-489.

258 Skelly, D. K. 1995. A Behavioral Trade-Off and Its Consequences for the Distribution of
259 *Pseudacris* Treefrog Larvae. *Ecology*. 76:150–164.

260 Skelly, D. K., E. E. Werner, y S. A. Cortwright. 1999. Long-term distributional dynamics
261 of a Michigan amphibian assemblage. *Ecology* 80:2326–2337.

262 Smith, D. C. 1987. Adult recruitment in chorus frogs: effects of size and date at
263 metamorphosis. *Ecology*, 68:344-350.

264 Werner, E. E. 1986. Amphibian metamorphosis: growth rate, predation risk and the optimal
265 size at transformation. *Am. Nat.*, 128:319-341.

266 Wilbur, H. M. 1980. Complex life cycles. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 11:67-93.

267 Wilbur, H. M. 1987. Regulation of structure in complex systems: experimental temporary
268 pond communities. *Ecology* 68:1437-1452.

269 Wilbur, H. M. y J. P. Collins. 1973. Ecological aspects of amphibian metamorphosis.
270 *Science* 182:1305-1314.

271 Woodward, B. D. 1982. Tadpole competition in a desert anuran community. *Oecologia*.
272 54:96-100.

273 Woodward, B. D. 1983. Predator-prey interactions and breeding-pond use of temporary-
274 pond species in a desert anuran community. Ecology. 64:1549-1555.

275

276

277

278

279

280

281

282

283

284

285

286

287

288

289

290

291

292

293

294

295

296

297

298

299

300

301 Fig. 1 Map of Sierra de Guadalupe, México

302

303 Fig. 2 Variation in climatic variables (temperature, precipitation and relative humidity)
304 related with anuran presence during 2008-2012.

305

306 Fig. 3 Activity in the three species along day.

307

308

309 Fig. 4 Yearly variations in the sex ratio in the three anuran specie 2008-2012, where *Hyla*
310 *arenicolor* = *H.a.*, *Hyla eximia* = *H. e* and *Spea multiplicata* = *S.m.*

311

312 Fig. 5 Time in larval development each year during 2008-2012. Values present
313 mean±standard error.

314

315

316

317

318

319

320

321

322

323

324

325

326

327

328

329

330

331

332

333

334

335

336

337

338

339

340

341

342

343

344

345

346

347

348

349

350

351

352

353

354

355
356
357
358
359
360
361
362
363
364
365
366
367
368
369
370
371
372
373
374
375
376
377
378
379
380

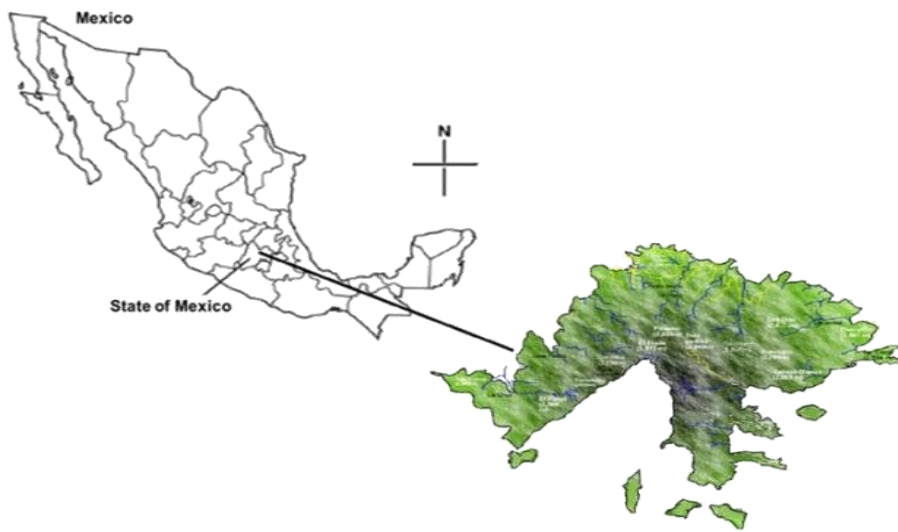


Fig. 1

381

382

383

384

385

386

387

388

389

390

391

392

393

394

395

396

397

398

399

400

401

402

403

404

405

406

407

408

409

410

411

412

413

414

415

416

417

418

419

420

421

422

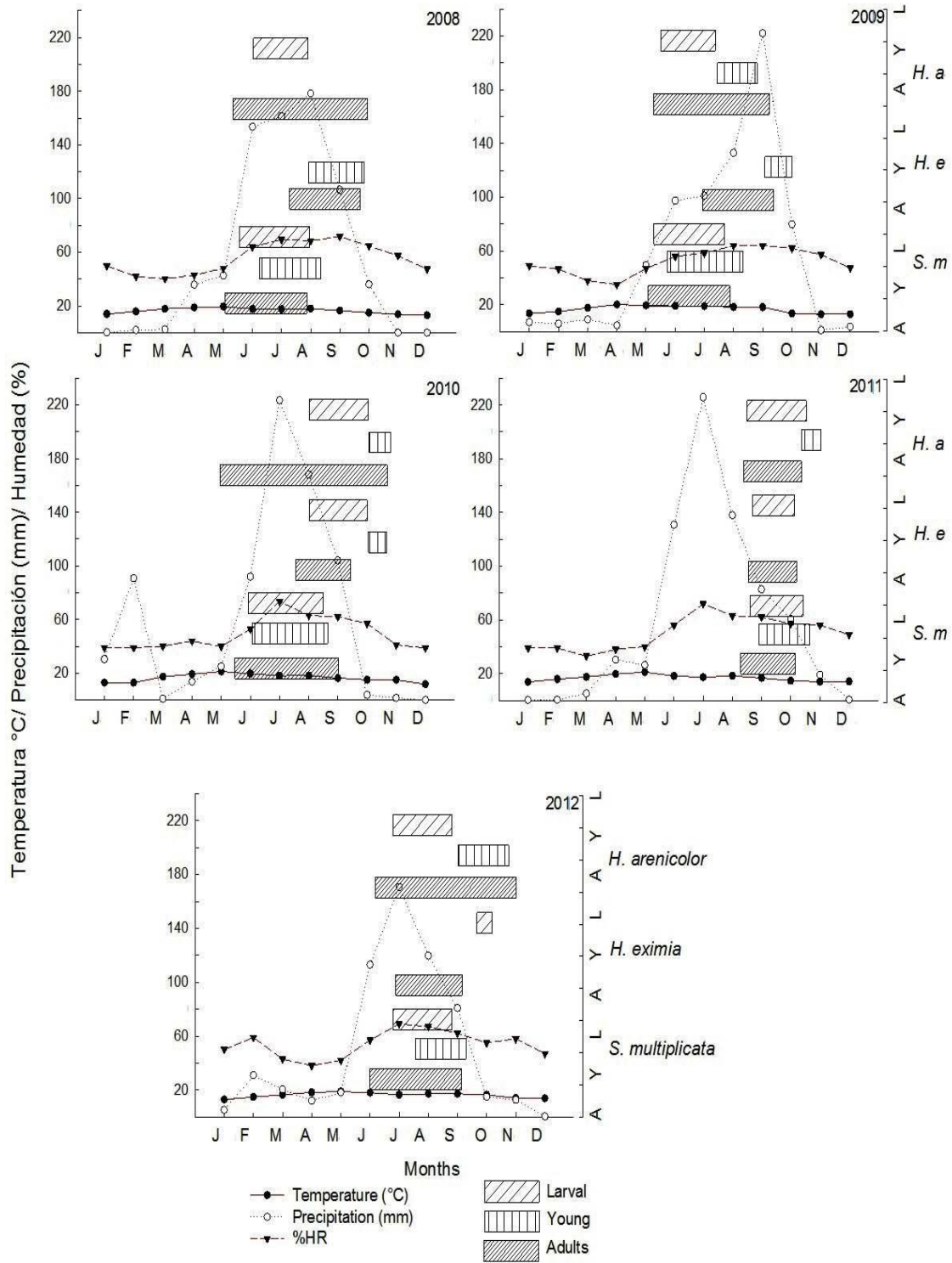


Fig 2

423

424

425

426

427

428

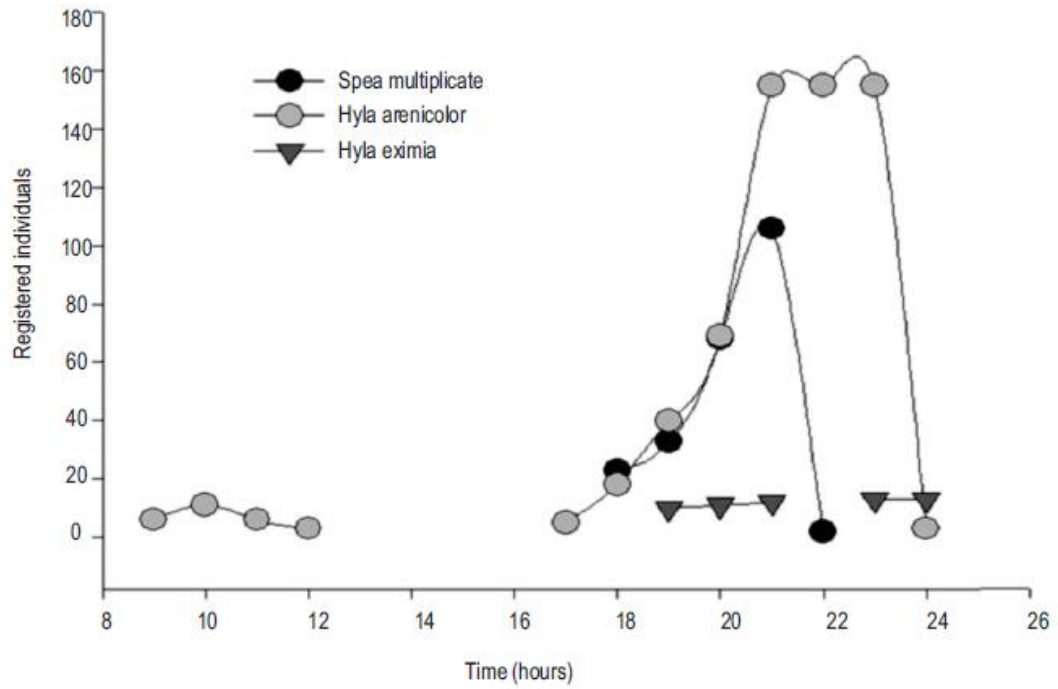
429

430

431

432

433



434 Fig.3

435

436

437

438

439

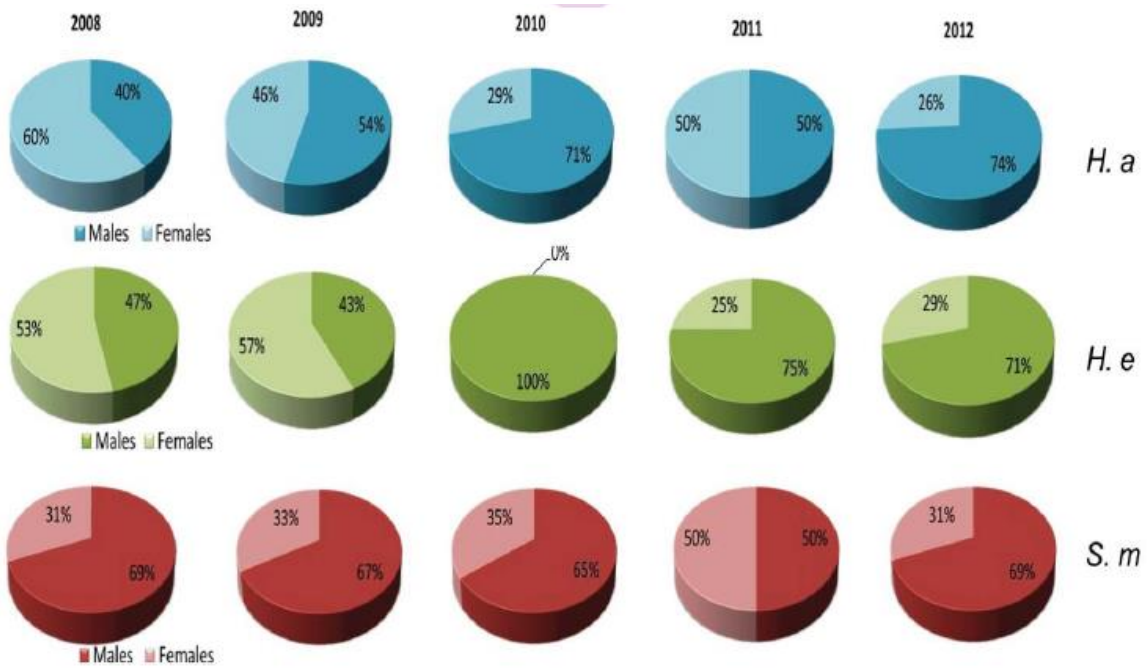
440

441

442

443

444



445 Fig.4

446

447

448
449
450
451
452
453
454
455
456
457
458
459
460
461
462
463
464
465
466
467
468
469
470
471

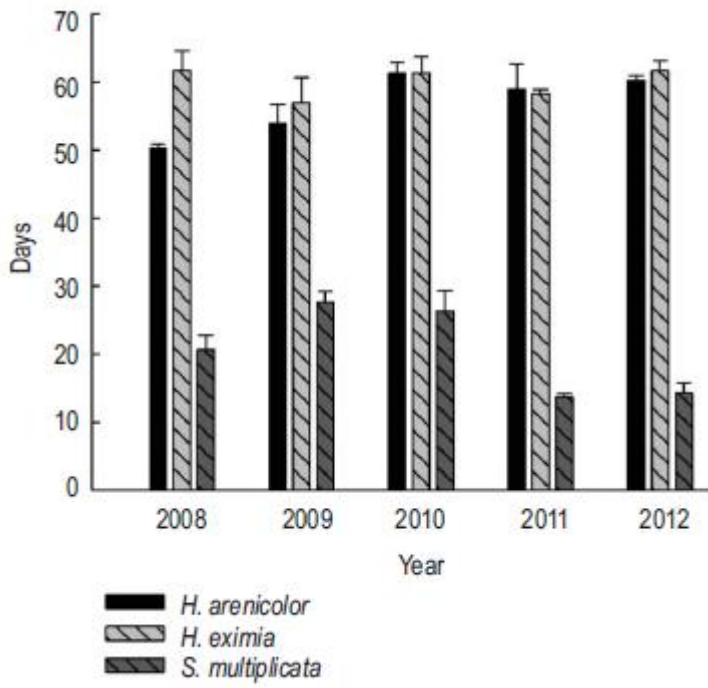


Fig.5

DOI : [http://doi.org/10.22438/jeb/38/6\(SI\)/05](http://doi.org/10.22438/jeb/38/6(SI)/05)

JEB™

ISSN: 0254-8704 (Print)
ISSN: 2394-0379 (Online)
CODEN: JEBIDP

Phenology of three anuran species in Sierra de Guadalupe forest, Mexico

Authors Info

S.F. Arias-Balderas^{1,2*} and
F.R. Méndez de la Cruz^{2*}¹Posgrado en Ciencias Biológicas,
Universidad Nacional Autónoma de
México, Circuito Exterior S/N,
Ciudad Universitaria, Delegación
Coyoacán, Mexico City, 04510,
Mexico²Zoology Department, Biology
Institute, Universidad Nacional
Autónoma de México, Circuito
Exterior S/N, Ciudad Universitaria,
Delegación Coyoacán,
Mexico City, 04510, Mexico*Corresponding Author Email :
biolsarias@gmail.com

Key words

Amphibians
Behaviour
Environmental variables
Larval cycle

Publication Info

Paper received : 05.05.2016
Revised received : 07.12.2016
Re-revised received : 18.01.2017
Accepted : 24.02.2017

Abstract

Aim: Biological and ecological aspects of a large part of the Mexican anuran species are largely unknown. Information about their habits is helpful to establish the role they play in their environment. *Hyla arenicolor*, *Spea multiplicata* and *Hyla eximia* are widely distributed species and apparently coexist in much of the Mexican Altiplane. However, their reproductive strategies are different. The aim of this work was to determine the spatio-temporal distribution of these three species under field conditions.

Methodology: The populations of three species of anurans were studied in two ponds and one reservoir for five years from a Protected Natural Area, called the Sierra de Guadalupe (State of Mexico). Species presence, date, sex, age group, as well as air and water temperatures were recorded at sites, while the relative humidity and precipitation data were obtained from the Atmospheric Monitoring System of the City of Mexico. Analysis of variance (ANOVA) and circular statistics was carried out to determine the differences among species in presence, activity, and time in larval development.

Results: In all 1328 records of the three species were obtained. For the spatial-temporal distribution patterns, the results did not show significant differences in the occupation of the ponds. The species showed the peak activity from 17:00 to 00:00, with *H. arenicolor* being the only one that presented a bimodal activity. The sex ratio showed significant differences among the species. The highest similarities in sex ratio were found between *S. multiplicata* and *H. arenicolor* throughout the study, whereas *H. eximia* differed every year.

Interpretation: The implication of climatic factors showed that the years with the longest delay in the rainfall had influence on the presence of anurans and duration of permanency. This can accelerate the larval period of *S. multiplicata*. The shortening of reproductive phase and the life cycle from tadpole to adult can have adverse effects on the anuran population.



Introduction

Local distribution of many amphibians is limited by the restrictions demanded by the reproduction mode (Cushman, 2006). Evidently, aquatic larval forms are part of these restrictions because they require adequate lapses of hydroperiod that may be variable each year (Skelly *et al.*, 1999). Anurans, the order to which study species belong, spend the first part of their lives as aquatic herbivores (or in some cases as omnivores) and the latter part as terrestrial carnivores. The larval stage is only devoted to growth, while adulthood is for reproduction, dispersion and survival under different climatic conditions (Wilbur, 1980).

It has been observed that many temperate amphibians migrate each year to ponds for breeding and rearing. Often the temperate and Mediterranean environments present a short period for reproduction (Salvador and Carrascal, 1990). The beginning and duration of this period is influenced by diverse factors such as precipitation and temperature (Salthe and Mecham, 1974; Semlitsch, 1985), as well as by biotic factors, such as intra and interspecific competition (Wilbur, 1980; Crump, 1982) which often act in complex ways affecting the survival, larval development, and metamorphosis (Brockelman, 1969; Wilbur and Collins, 1973; DeBenedictis, 1974; Wilbur, 1987).

Because many species of amphibians often breed in the same pond, some of them use the temporal segregation strategy to avoid competition and predation pressure (Blair, 1961; Wilbur, 1980, 1987). Species divide the aquatic habitat into space or time for mating, breeding and larval development by adjusting time according to these conditions and to existing resources (Wilbur, 1980).

Conditions in aquatic habitats strongly influence the duration of the larval phase of amphibian species, which may last for weeks or even years depending on the species (Werner, 1986; Alford and Harris, 1988). Although time and size in metamorphosis are flexible life history traits, the minimum and maximum duration in this period are species-specific (Wilbur and Collins, 1973, Smith, 1987, Alford and Harris, 1988). In unfavourable or short-lived aquatic environments, larvae rapidly transform and become small in size due to rapid drying of ponds and high levels of competition or predation. However, under favourable conditions, larvae may prolong metamorphosis and become larger (Alford, 1999).

Hyla arenicolor, *Hyla eximia* and *Spea multiplicata* are distributed in USA and Mexico from North of Chihuahua and Tamaulipas until North of Oaxaca, Mexico. They are often encountered in the rainy season in temperate forest areas; however, they usually emerge at different times. Most larval ecology of amphibians can be generalized in a gradient, with species well established to coexist, with predators and competitors in the temporary pools. Thus, abiotic factors (such

as hydroperiod) and biotic factors (such as interactions) work in a complex cost-benefit system that influences larval ability and the success of metamorphosis (Woodward 1982, 1983, Skelly 1995, McDiarmid and Altig 1999). Therefore determining the spatio-temporal distribution of these three species is important to distinguish the requirements of each of them. In addition, the present work examines the possible influence of environmental factors such as temperature, precipitation and humidity at the beginning and at the end of reproduction and the limits that determine the presence (or absence) of a given species.

Materials and Methods

The populations of three species of anurans, *Hyla arenicolor*, *H. eximia* and *Spea multiplicata* were studied in two ponds and a reservoir from May 2008 to November 2012. The study area is about 70 km² and belongs to the Protected Natural Area "Sierra de Guadalupe" located in the State of Mexico. Plant species, *Quercus deserticola*, *Q. rugosa*, *Acacia farnesiana*, *Buddleia americana*, *Bursera sp.*, *Cilindropuntia imbricata*, *Opuntia lasiacantha* and *O. streptacantha* inhabit the study area. The ponds are surrounded by oak forest and xerophytic scrubs and with less than 1km distance between them. One of the ponds has an almost permanent hydroperiod, while the others dry mostly during winter and spring. Species presence, date, sex, age group, as well as air and water temperatures were recorded at sites, while relative humidity and precipitation data were compiled from the Atmospheric Monitoring System of the City of Mexico, in order to be able to compare the changes that could present the species between the years of study.

Once the data were obtained by year and month of each species, as well as the environmental variables (temperature, humidity and precipitation), we analyzed the annual presence of each one, the distribution in space-time, sex ratio and the period of larval development until the metamorphosis through periodic records in the study area. Analysis of variance (ANOVA) was carried out to determine if there were differences between species with respect to the time of larval development.

Circular statistics were used to determine the activity schedule of each species using the Watson (Batschelet, 1981) paired comparison test and the Kuiper K test, in order to establish if the activity schedules behave in a uniform way or there were differences among species (Salgado-Ugarte *et al.*, 1993; 1995; 2009; 2011).

We compared the value of U^2 calculated with the critical values of tables for Watson's U^2 . If the calculated value is higher than the tables, we reject the null hypothesis, in this case the uniformity in the activity schedule of the species and in the Kuiper's K case applies similarly showing differences when the calculated K is greater than that of tables (Batschelet, 1981).

Results and Discussion

A total of 1328 records of the three species, counting metamorphs (young) and adults were obtained, with being *S. multiplicata* the one with the highest number (1060), followed by *Hyla arenicolor* with 180 records and the least abundant was *H. eximia* with 88 records. Regarding the spatial-temporal distribution, the results did not show significant ($P = 0.594$) differences in the occupation of the ponds, since these were occupied indiscriminately by the three species. However, it was evident that these were linked to the first constant rains. Thus, from 2008 to 2010 they were favoured by the presence and duration of the three species, while in 2011 and 2012 the period of permanence of the species was much lower. During 2011 *H. arenicolor* remained only for two months unlike the four to five months that were present in the other years. *H. eximia* was present for two months each year (Fig. 2) but its abundance was reduced, being limited to only seven records in 2011 and 2012 (three and four records, respectively). The species showed a peak activity from 17:00 to 00:00, with *H. arenicolor* being the only one that presented a bimodal activity, from 09:00 to 12:00 and from 17:00 to 00:00h while *S. multiplicata* showed activity from 18:00-22:00h and *H. eximia* from 19:00-00:00h (Fig. 3). The sex ratio also showed significant differences among the species (ANOVA, $P = 0.008$), and for *H. eximia* and *S. multiplicata* the t-student test showed differences between the sexes ($P = 0.047$ and $P < 0.001$) (Fig. 4).

Another difference among the studied species was that the sex ratio changed each year of study. The highest similarities in sex ratio were found between *S. multiplicata* and *H. arenicolor* throughout the study, whereas *H. eximia* differed every year because of a higher number of males, and even without females in 2010, 25% in 2011 and 29% in 2012. Evidently, the effects of the delay of rainfall occurred in the first two years mentioned (Fig. 4).

The larval development was also linked to the annual rainfall regime and the presence of humidity, emphasizing that in the years with less rainfall the larval development was accelerated in *S. multiplicata*, whereas for the rest of the species this did not alter the time of development (Fig. 5).

Amphibians should restrict their activity time during the day when optimal conditions are present and their performance is optimum (Duellman and Trueb, 1985; Donnelly and Crump, 1998). Temperature and humidity are fundamental to these activities (Pounds, 2001; Pounds, 2006). For example, in tropical regions some amphibians may be active practically all day (Donnelly and Crump, 1998). However, in cold regions the schedules are much more restricted, although some may be active at practically freezing temperatures. In temperate regions amphibians are restricted to the spring and summer seasons, when favourable temperatures and summer rains occur, as is the case with most amphibians inhabiting the semi-arid zones of Mexico (Buchholz

and Hayes, 2000). This case is represented in this work with all the studied species, where the presence is evident during the summer rains.

One of the fundamental questions is whether the organisms present their activity according to the phylogenetic inertia or by a total influence of the environment in which they inhabit (Buckley and Jetz, 2007). *Hyla arenicolor* and *H. eximia* are closer phylogenetically, while *S. multiplicata* belongs to a different family (Pyron and Wiens, 2011). However, the activity of the three species studied showed certain similarities. The spatial distribution of species was also similar because pond conditions gave them shelters, such as rocks and plants as well as providing with abundant prey (crustaceans such as cladocerans). Abiotic factors such as depth (50-150 cm) and pH (7-7.5) also favoured the reproduction of these species. The results indicate that a suitable environment for the species under study included small and isolated water bodies with submerged vegetation, as proposed for other amphibians (Conner *et al.*, 2008).

As for the species' temporality, the presence of the three species was defined by the first rains and the presence of humidity in the environment. The data obtained during the present study agree with that reported by McMenamin *et al.* (2008), where the climate impacts have adversely affected the presence of populations of some amphibian species in Yellowstone National Park and have caused their population decline. In addition, in the present study it was observed that the three species restricted their presence in the years where rainfall and humidity were minor or late (Fig. 2). Likewise, no obvious effects were observed with the delay in the rainfall regimen in terms of abundance, as noted for *H. arenicolor* and *S. multiplicata* (Beebe, 1995). However, *H. eximia* seems to be more sensitive, since it emerges when the pool has a depth >50 cm. The effect of delays in the rainfall regime

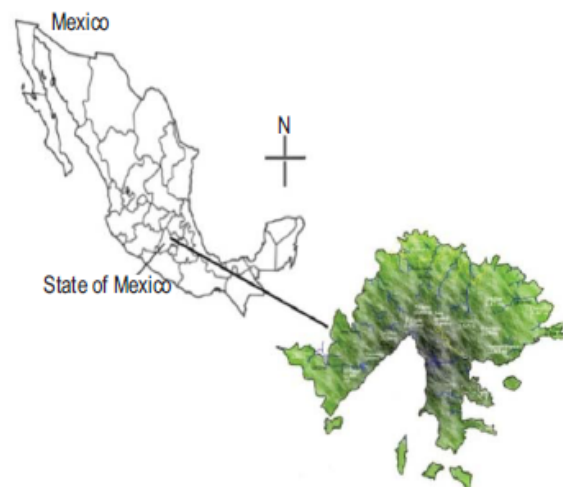


Fig. 1 : Map of Sierra de Guadalupe, México

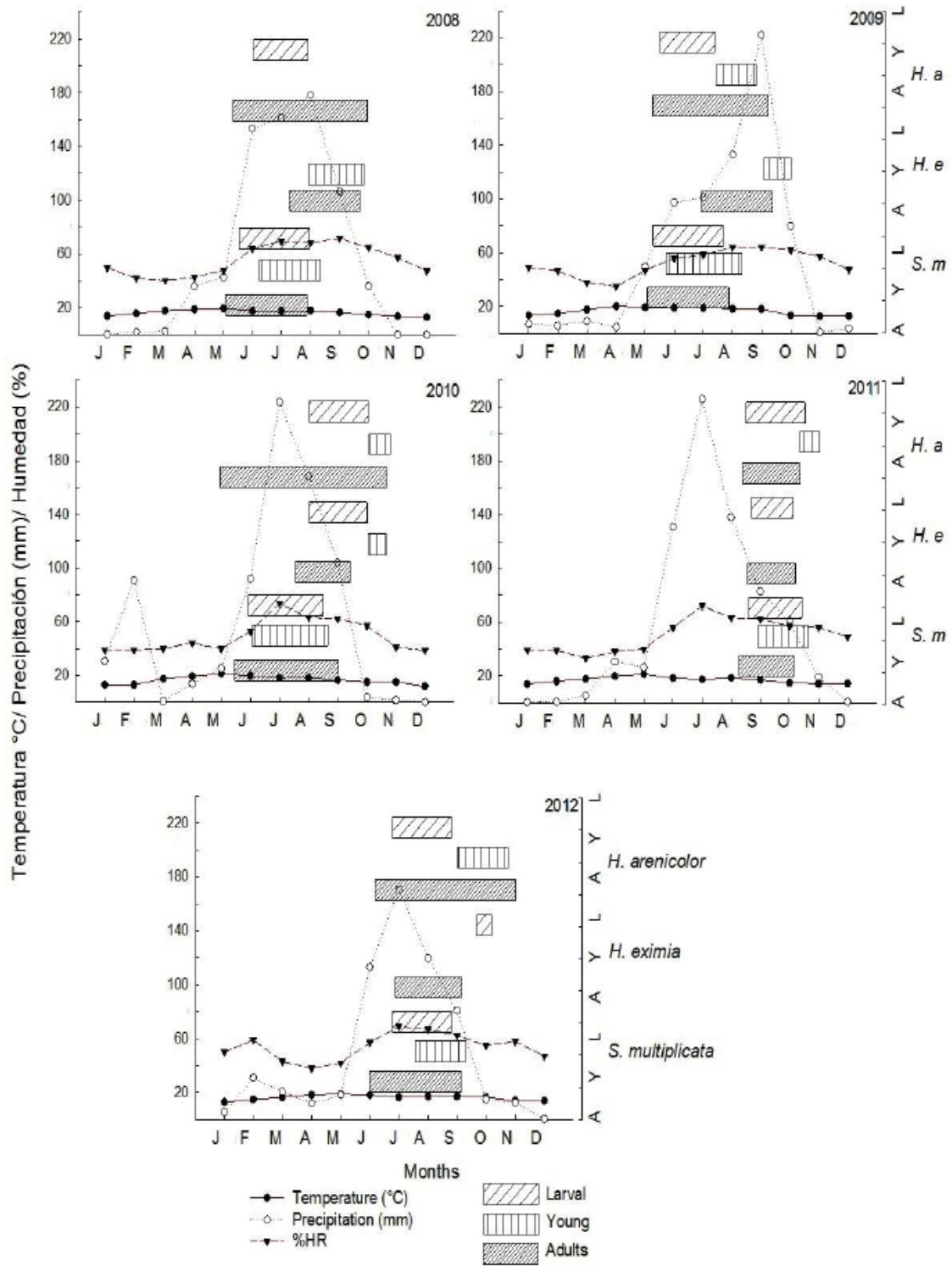


Fig. 2 : Variation in climatic variables (temperature, precipitation and relative humidity) related with anuran presence during 2008-2012

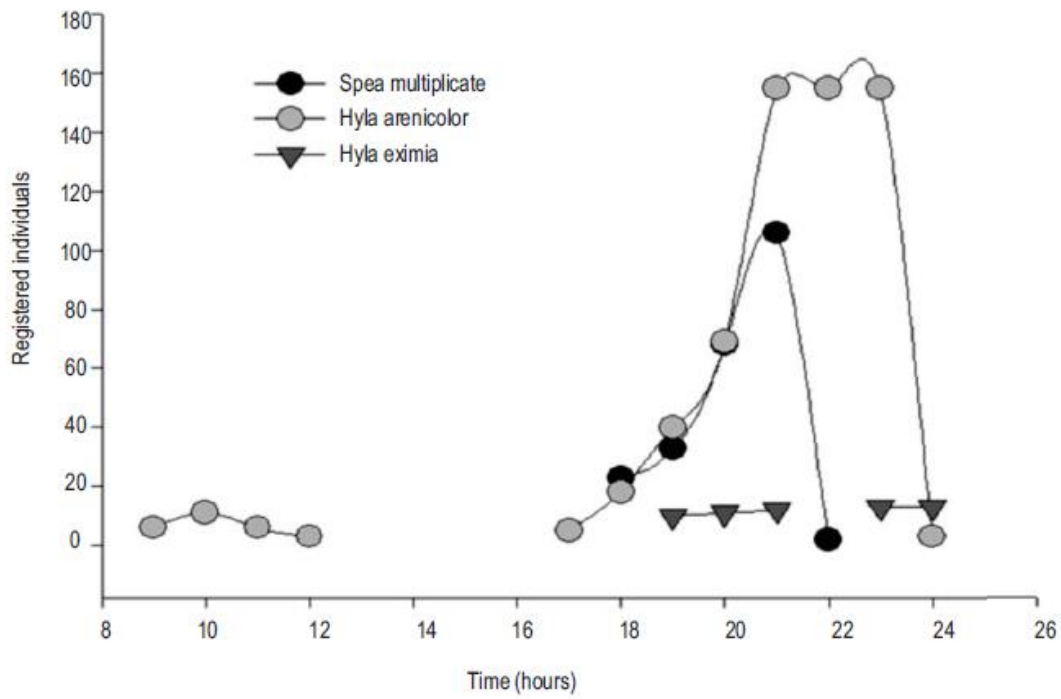


Fig. 3 : Activity in three species along day

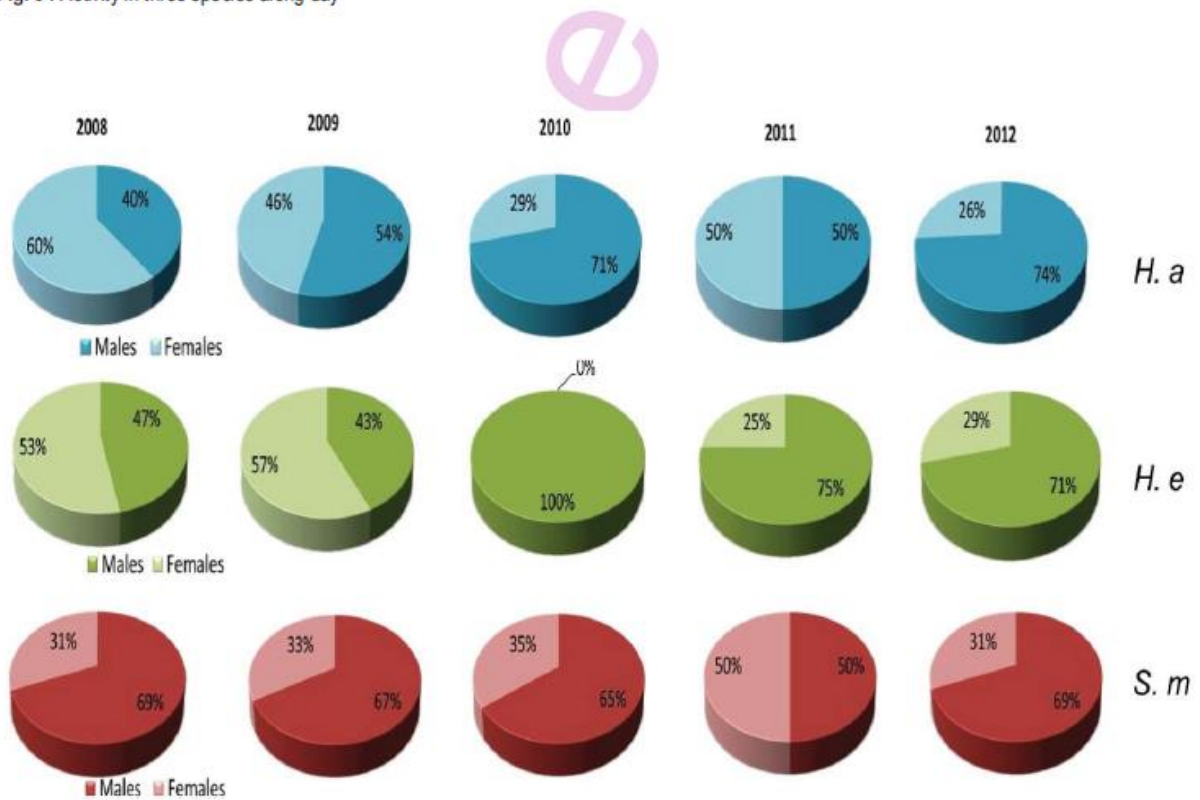


Fig. 4 : Yearly variations in the sex ratio in three anuran species 2008-2012, where *Hyla arenicolor* = *H. a*, *Hyla eximia* = *H. e* and *Spea multiplicata* = *S. m*.

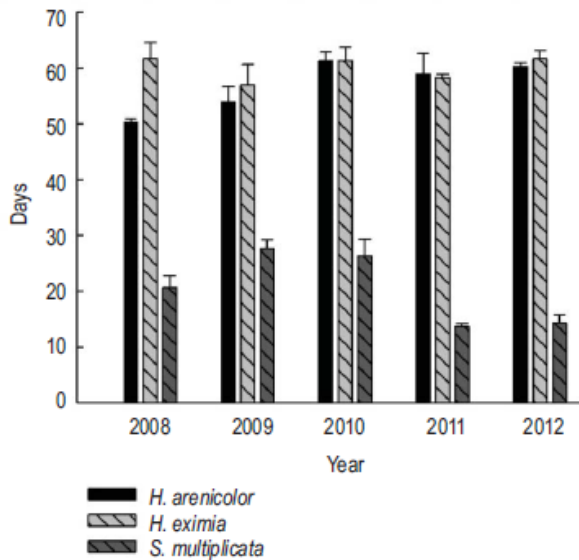


Fig. 5 : Time in larval development each year during 2008-2012. Values present mean \pm standard error

was evidenced by the marked decline of organisms in subsequent years (Fig. 2 and 4).

The daily activity among studied species was delayed maximum an hour. However, the only one that recorded two peaks of activity was *H. arenicolor*, that also shows crepuscular or nocturnal habits even though found active during the day. A group of anurans, such as *H. arenicolor*, have tubercles on the skin which secrete a lipid substance that prevents desiccation and this helps them tolerate solar radiation in adulthood (Hillman *et al.*, 2009).

The causes of declining species of a large number of anurans have been focussed on diseases provoked by loss of biodiversity, deforestation, introduction of exotic species, pesticides, etc. (Carey *et al.*, 2003). However, adverse factors affecting sex ratio have been poorly documented. The present study shows that due to the effect on rainfall regimes, this can lead to fatal consequences for the stability of amphibians, as documented earlier (Alexander and Eischeid, 2001; Cushman, 2006). *H. eximia* seems to suffer serious consequences because the alteration in the rainfall regime had a significant effect on the sex ratio during 2010 and the subsequent years only showed a slight recovery.

The larval development time in amphibians is highly variable; it can last from a few days to three years as has been observed in some species of *Ascaphus* and *Rana*. It has also been recorded that some species may delay or accelerate this process depending on the degree of predation in the ponds or the

drying time of the waterbodies (Denver, *et al.*, 1998). For the species studied here, the development time was similar during the years of study, where a more similar pattern was registered between *H. arenicolor* and *H. eximia*, with a period close to 60 days. *S. multiplicata* showed plasticity in larval development time, since in favourable years the development extended from one to two months, and in years with delayed rains, the duration in the larval development accelerated to only 15 days. This seems to be an opportunistic behaviour depending on the food availability, temperature (Buchholz, 2000) and even the temporality of the ponds.

The strategies used by the anurans in terms of the opportunities offered by ponds for reproduction and larval development are well documented. These strategies have also been recorded in anurans with aquatic eggs where the characteristics of ponds coupled with abiotic factors such as temperature, humidity and rainfall can alter the biological cycles of these species. As observed here, the rainy season itself can cause a decline in the abundance of the species. In the years with a greater delay in the rains the presence of the three species was altered, although the most affected was *H. eximia*. However, it seems that the phylogenetic constraints that exist between *H. arenicolor* and *S. multiplicata* neither interfere in the preference of the activity times, nor in the sex ratio since these were similar. On the other hand, *H. arenicolor* and *H. eximia* appear to retain these phylogenetic affinities in relation to larval development, whereas *S. multiplicata* was the one that showed the greatest plasticity and seems to be the least susceptible to changes in rainfall. *H. eximia*, on the other hand, proved to be the most sensitive to the limit of putting at risk the sex ratio that could potentially lead to the extinction of the population.

Acknowledgments

The first author declares this paper is a requirement to obtain the PhD in Sciences from the program of *Posgrado en Ciencias Biológicas*, UNAM. She thanks the Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México and CONACYT for scholarship funding (CVU 294891). Thanks are due to Dr. Salgado-Ugarte for the help with the circular statistics. Elisa Pamela Mendoza Argueta, Rafael Alejandro Calzada Arciniega and Raúl Gómez Trejo Pérez helped in the field work. FRM thanks the Macrosystems Project (NSF) and PAPIIT-UNAM IN210116.

References

- Alexander, M.A. and J.K. Eischeid: Climate variability in regions of amphibian declines. *Conservation Biology*, 15, 930-942. (2001).
- Alford, R.A.: Ecology: resource use, competition and predation, In: Tadpoles: The Biology of Anuran Larvae (Eds.: Roy, W.Mc Diarmid and R. Altig). The University of Chicago Press, Chicago. pp. 189-214. (1999).
- Alford, R.A. and R.N. Harris: Effects of larval growth history on anuran

- metamorphosis. *American Naturalist*, **131**, 91-106 (1988).
- Beebee, T.J.C.: Amphibian breeding and climate. *Nature*, **374**, 219-220 (1995).
- Blair, W.F.: Calling and spawning seasons in a mixed population of anurans. *Ecology*, **42**, 99-110 (1961).
- Brockelman, W.Y.: An analysis of density effects and predation in *Bufo americanus* tadpoles. *Ecology*, **50**, 632-644. (1969).
- Buchholz, D.R. and T.B. Hayes: Larval period comparison for the Spadefoot toads *Scaphiopus couchii* and *Spea multiplicata* (Pelobatidae: Anura). *Herpetologica*, **4**, 455-468. (2000).
- Buckley, L.B. and W. Jetz: Environmental and historical constraints on global patterns of amphibian richness. *Proceedings of the Royal Society B*, **274**, 1167-1173 (2007).
- Carey, C., D.F. Bradford, J.L. Brunner, J.P. Collins, E.W. Davidson, J.E. Longcore, M. Ouellet, A.P. Pessier and D.M. Schock: Biotic factors in amphibian population declines. In: Amphibian decline: An integrated analysis of multiple stressor effects (Eds.: G. Linder, S.K. Krest and D.W. Sparling). Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Pensacola, Florida, pp. 153-208 (2003).
- Conner, C.A., E.B. Harper and R.D. Semlitsch: Breeding and recruitment phenology of amphibians in Missouri Oak-Hickory Forests. *American Midland Naturalist*, **160**, 41-60 (2008).
- Cushman, S.A.: Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: A review and prospectus. *Biological Conservation*, **128**, 231-240 (2006).
- Crump, M.L.: Amphibian reproductive ecology on the community ecology level. In: Herpetological communities (Ed.: N.J. Scott). U.S. Fish Wild. Service, Wild. Res. Rep. 13, pp. 21-36 (1982).
- Denver, R.J., M. Nooshan and M. Phillips: Adaptive plasticity in amphibian metamorphosis: Response of *Scaphiopus hammondi* tadpoles to habitat desiccation. *Ecology*, **79**, 1859-1872 (1998).
- Donnelly, M.A. and M.L. Crump: Potential effects of climate change on two neotropical amphibian assemblages. *Climatic Change*, **39**, 541-561 (1998).
- Duellman, W.E. and L. Trueb: Biology of amphibians. McGraw-Hill Book Company. Toronto (1986).
- Hillman, S.S., P.C. Withers, R.C. Drewes and S.D. Hillyard: Ecological and Environmental Physiology of Amphibians, Oxford University Press. E.U.A., p. 469 (2009).
- McDiarmid, R.W. and R. Altig: Tadpoles the biology of anuran larvae. University of Chicago Press, p. 444 (1999).
- Pounds, J.A.: Climate and amphibian declines. *Nature*, **410**, 639-640. (2001).
- Pounds, J.A.: Widespread amphibian declines from epidemic disease driven for global warming. *Nature*, **439**, 161-167 (2006).
- Pyron, R.A. and J.J. Wiens: A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. *Mol. Phylogen. Evol.*, **61**, 543-583. (2011).
- Salthe, S.N. and J.S. Mecham: Reproductive and courtship patterns. In: *Physiology of the Amphibia* (Ed.: B. Lofts). Academic Press, New York, pp. 309-521 (1974).
- Salvador, A. and L.M. Carrascal: Reproductive phenology and temporal patterns of mate access in mediterranean anurans. *J. Herpetol.*, **4**, 438-441 (1990).
- Semlitsch, R.D.: Analysis of climatic factors influencing migrations of the salamander *Ambystoma talpoideum*. *Copeia*, **1985**, 477-489 (1985).
- Skelly, D.K.A.: Behavioral trade-off and its consequences for the distribution of *Pseudacris* treefrog larvae. *Ecology*, **76**, 150-164 (1995).
- Skelly, D.K., E.E. Werner and S.A. Cortwright: Long-term distributional dynamics of a Michigan amphibian assemblage. *Ecology*, **80**, 2326-2337 (1999).
- Smith, D.C.: Adult recruitment in chorus frogs: Effects of size and date at metamorphosis. *Ecology*, **68**, 344-350 (1987).
- Werner, E.E.: Amphibian metamorphosis: Growth rate, predation risk and the optimal size at transformation. *American Naturalist*, **128**, 319-341 (1986).
- Wilbur, H.M.: Complex life cycles. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, **11**, 67-93 (1980).
- Wilbur, H.M.: Regulation of structure in complex systems: Experimental temporary pond communities. *Ecology*, **68**, 1437-1452 (1987).
- Wilbur, H.M. and J.P. Collins: Ecological aspects of amphibian metamorphosis. *Science*, **182**, 1305-1314 (1973).
- Woodward, B.D.: Tadpole competition in a desert anuran community. *Oecologia*, **54**, 96-100 (1982).
- Woodward, B.D.: Predator-prey interactions and breeding-pond use of temporary-pond species in a desert anuran community. *Ecology*, **64**, 1549-1555 (1983).

CAPÍTULO 2

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25

Relaciones térmicas y temperaturas preferidas en *Dryophytes arenicolor* y *Spea multiplicata* (Amphibia: Anura) en un bosque templado del centro de México.

Thermal relations in *Dryophytes* and *Spea* in México.

SANDRA F. ARIAS-BALDERAS¹ & FAUSTO R. MÉNDEZ DE LA CRUZ^{2*}

¹ Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, México D.F. C.P. 04510.

² Departamento de Zoología, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, México D.F. México, C.P. 04510.

*Correspondence e-mail author: biolsarias@gmail.com

Type of manuscript-Article

Total words -

Words in abstract –

26

ABSTRACT.

27 *Dryophytes arenicolor* and *Spea multiplicata* are two species that share a wide distribution
28 and coexist over most of their ranges, even though their phylogenetic origin, reproductive
29 strategy and reproductive phenology are quite different. The present study recorded their
30 body temperatures (tb), environmental temperatures (ta and ts), and operative temperatures
31 (to). We also recorded their preferred body temperature in the laboratory (tset). The results
32 show that *Dryophytes arenicolor* fluctuates between thigmothermy and heliothermy,
33 whereas *Spea multiplicata* was thigmothermic, even though its selected and field
34 temperature were not significantly different. Despite the many differences between the two
35 species we studied, both preferred similar body temperatures in the field. This similarity
36 may occur because they are exposed to the same environmental factors and both tolerate
37 direct exposure to the sun, thanks to the structure of their skin. However, both species are
38 under constant stress due to habitat fragmentation, pollution, and environmental. Thus, they
39 must meet their energy requirements by carefully allocating energy to thermoregulation.
40 **Key words:** anurans, environment, thermoregulation.

41

RESUMEN

42 *Dryophytes arenicolor* y *Spea multiplicata* son dos especies que comparten una amplia
43 distribución y también coexisten en la mayor parte de ese rango, a pesar de que su origen
44 filogenético, estrategia reproductiva y fenología reproductiva es muy diferente. En el
45 presente estudio se registraron sus temperaturas corporales (tb), las temperaturas
46 ambientales (ta y ts) así como sus temperaturas operativas (to). En el laboratorio se registró
47 su temperatura preferida (tset). Los resultados mostraron que *Dryophytes arenicolor* fluctúa
48 entre la tigmotermia y la heliotermia, mientras que *Spea multiplicata* se inclina hacia la
49 tigmotermia, aunque las temperaturas seleccionadas y de campo no fueron
50 significativamente diferentes. A pesar de que se mostraron diferencias entre las especies

51 estudiadas, ambas prefirieron temperaturas corporales similares en el campo, quizás porque
52 están expuestas a los mismos factores ambientales y ambas toleran la exposición directa,
53 gracias a la estructura de su piel. Sin embargo, ambas especies están en constante estrés
54 debido a la fragmentación del hábitat, la contaminación y el estrés ambiental. De modo que,
55 tienen que solventar sus requerimientos invirtiendo menor o mayor energía para
56 termorregular.

57 **Palabras clave:** anuros, ambiente, termorregulación.

58

59

INTRODUCCIÓN

60

61 En organismos ectotérmicos como los anfibios, la temperatura ambiental tiene una
62 fuerte influencia en la absorción de energía, la adquisición de recursos y las interacciones
63 con otros organismos (Bennet, 1990). Las temperaturas corporales de los anuros pueden
64 oscilar entre $21,3 \pm 2,4$ ° C en *Rhinella (Bufo) marina* (Johnson, 1972) a $28,6-34,2$ ° C en
65 *Dryophytes arenicolor* (Wylie, 1981).

66 Dentro de una especie, puede haber alguna variación dependiendo del sitio de la
67 percha, ya que las perchas más altas elevan la temperatura corporal en *Hyperolius*
68 *marmoratus* (Preest et al., 1992); o por estación, como en *Buergeria japonica*, donde las
69 temperaturas de los renacuajos fluctúan entre 33.1 y 43.8 ° C en primavera y verano y entre
70 29.5 y 40.6 ° C durante el invierno (Chi-Shiun y Yeong-Choy, 2005).

71 La temperatura también afecta varios aspectos de la historia de vida de los anfibios,
72 ya que la alimentación y las horas de actividad pueden modificarse o incluso cesar
73 (Lillywhite, et al., 1973; Katz et al., 1997; Wells, 2007). Los anfibios tienen la capacidad de
74 regular la temperatura de su cuerpo eligiendo diferentes microhábitats. La selección de

75 temperaturas óptimas mejorará el crecimiento, aumentará la probabilidad de reproducción y
76 mejorará la supervivencia, incluida la prevención de depredadores (Sinsch, 1984).

77 El aumento en la temperatura ambiental puede perturbar varias funciones
78 importantes en los anfibios. Por ejemplo, las altas temperaturas pueden aumentar la
79 virulencia del ampliamente diseminado patógeno anfibio *Batrachochytrium dendrobatidis*
80 (Bd) y / o aumentar la susceptibilidad a la infección (Mendoza-Almeralla et al., 2015).
81 Además, la temperatura determina los límites de distribución altitudinales y latitudinales de
82 muchas especies y puede promover la variación en el desarrollo embrionario y el
83 crecimiento en los anuros. En *Rana temporaria*, la variación latitudinal en la temperatura
84 promueve las diferencias en el rendimiento embrionario (Laugen et al., 2003). En los sapos
85 (Bufonidae) el tiempo para capturar presas disminuyó al aumentar la temperatura corporal
86 (Preest & Pough, 2003). En un estudio previo, los mismos autores discuten los efectos de la
87 temperatura (Tb) y el estado de hidratación que afectan negativamente al rendimiento
88 locomotor (Preest & Pough, 1989).

89 La mayoría de los anfibios (80-90%) se distribuyen en regiones tropicales, mientras
90 que solo unas pocas especies se encuentran en ambientes templados o fríos. Este patrón se
91 atribuye a una tendencia de las especies tropicales a tolerar un rango limitado de
92 temperaturas, mientras que las especies templadas están bajo selección para tolerar un
93 rango más amplio de temperaturas (Wells, 2010). Por lo tanto, los requisitos térmicos
94 podrían cambiar con las diferentes etapas en el ciclo de vida de la especie (Wells, 2007).

95 *Dryophytes arenicolor* y *Spea multiplicata* representan dos especies que tienen una
96 amplia distribución, incluidas las latitudes tropicales y templadas. Las poblaciones de las
97 dos especies que estudiamos se encuentran en el límite sur de su distribución (Deutch et al.,
98 2008). Sin embargo, ambas especies muestran diferencias en sus hábitos, que van desde
99 semi-acuáticos a semi-terrestres (*D. arenicolor*) a terrestres a fosoriales (*S. multiplicata*),

100 estos hábitos también afectan la temporada reproductiva y la tasa de desarrollo (Hillman et
101 al., 2009)) Además, *Spea multiplicata* puede habitar áreas más secas que *Dryophytes*
102 *arenicolor* (Lemos-Espinal y Dixon, 2010). Por lo tanto, éste estudio aborda los requisitos
103 térmicos en dos especies que comparten distribuciones similares, pero difieren en sus
104 historias naturales, *Dryophytes arenicolor* y *Spea multiplicata*.

105

106

MATERIAL Y METODO.

107

Recolección de datos de campo

109

110 *Dryophytes arenicolor* y *S. multiplicata* fueron recolectados en tres estanques y una
111 presa en un Bosque templado en el Parque Nacional Sierra de Guadalupe en el Estado de
112 México, durante la estación lluviosa en un año. La presencia de individuos de cada especie
113 se registró dentro o cerca de los sitios de muestreo durante su tiempos de actividad. La
114 temperatura corporal (tb), la temperatura del sustrato (ts) y la temperatura del aire (ta) de
115 cada organismo se registraron para determinar las relaciones térmicas utilizando un
116 termómetro digital FLUKE © con termopar. El peso corporal de cada individuo recolectado
117 también se registró. Las temperaturas operativas (a) se obtuvieron con modelos de agar
118 (7%) similares en tamaño y forma a una rana real en la talla promedio (Navas y Araújo,
119 2000) conectada a HOBO Data Loggers ©.

120

Temperaturas seleccionadas en laboratorio.

122

123 Las temperaturas seleccionadas (tset) se obtuvieron en el laboratorio de 25
124 individuos de cada una de las especies estudiadas. Cada individuo se expuso a un gradiente

125 térmico e hídrico utilizando una caja de plástico (100 x 60 x 85 cm) con sustrato y arena de
126 su entorno natural, cubriendo la mitad del recipiente de plástico. El gradiente se formó con
127 5-100% de humedad relativa y 15-30 ° C, usando focos y placas térmicas. El gradiente de
128 temperatura se basó en la t_b máxima y mínima, se incluyeron dos bebederos como
129 estanques pequeños. Por lo tanto, los organismos podían elegir su temperatura y humedad
130 preferidas. Las temperaturas corporales se registraron cada hora de 10:00 a 23:00 h para
131 determinar las temperaturas seleccionadas, siguiendo a Hertz et al. (1993)

132 Analizamos los datos por regresión lineal de las tres temperaturas (t_b , t_s y t_a , usando
133 t_s y t_a como variables independientes) en las dos especies de ranas para cumplir las
134 relaciones térmicas para las dos condiciones reconocidas para organismos ectotermos:
135 Heliotermia (ganan calor por medio del aire, si t_b depende de t_a) y tigmotermia (ganan
136 calor del sustrato, si t_b depende de t_s). Para el análisis de datos usamos el software
137 estadístico SigmaPlot version 11.0

138

139

RESULTADOS

140

141 Se analizaron un total de 52 individuos de *Dryophytes arenicolor* y 55 *Spea*
142 *multiplicata*, incluyendo ranitas y adultos. Las temperaturas promedio registradas para las
143 dos especies fueron 20.9 ± 3 ° C y 20.5 ± 2 ° C, respectivamente (ver Tabla 1 y Tabla 2).

144 Ambas especies analizadas mostraron una relación entre la temperatura corporal (t_b)
145 y la temperatura del sustrato, en *Dryophytes arenicolor*, t_b vs. t_s ($R^2 = 0.173$; $P = 0.002$), en
146 *Spea multiplicata*, t_b vs. t_s ($R^2 = 0.177$; $P = 0.001$) La temperatura del aire (t_a) y las
147 temperaturas corporales (t_b) se correlacionaron significativamente en *Dryophytes*
148 *arenicolor* ($R^2 = 0.255$; $P < 0.001$) pero no en *Spea multiplicata* ($R^2 = 0.0238$; $P = 0.261$).

173 experimentan los animales ectotérmicos en cada latitud. Las temperaturas de verano varían
174 menos en la latitud que las temperaturas de invierno (Figura 3 y 4).

175 Las poblaciones de las dos especies estudiadas mostraron temperaturas promedio
176 cercanas a los 20 ° C. Ambos se comportan térmicamente de manera similar, a pesar de
177 tener diferencias en hábitats y en historias de vida. Esta similitud puede indicar que el
178 ambiente está actuando en la selección del microhábitat por parte de la especie o que tal vez
179 este ambiente puede ser más decisivo que la biología o los requisitos de estas especies. En
180 el caso específico de *Dryophytes arenicolor*, un estudio previo informó temperaturas
181 corporales de 28.6-34.2 ° C (Preest et al., 1992), que son muy diferentes de las informadas
182 en este estudio. Sin embargo, Preest et al. registró temperaturas alrededor del mediodía y de
183 ranas expuestas al sol, mientras que nuestros datos se obtuvieron de 17: 00-23: 00h (desde
184 el atardecer hasta casi la medianoche). También podemos haber observado un intervalo de
185 tb más amplio que Preest et al. (1992) (14-29.2 ° C) porque nuestro sitio de estudio está en
186 latitud tropical. Wylie (1981) registró temperaturas corporales en esta misma especie de
187 12,3-35,8 ° C, lo que muestra que la especie se encuentra en una amplia gama de
188 temperaturas corporales en el campo.

189 *Dryophytes arenicolor* también exhibe menores tasas de pérdida de agua por
190 evaporación y temperaturas corporales más altas que muchos anuros (Preest et al., 1992).
191 Esta información puede explicar por qué algunas de las temperaturas corporales de campo
192 que registramos son más altas que las temperaturas operativas y las temperaturas
193 seleccionadas que medimos en este estudio.

194 En contraste, encontramos que *Spea multiplicata* exhibió un intervalo de
195 temperaturas corporales de 16-27.3 ° C. Este intervalo es muy similar a lo que se ha
196 informado en otras especies de la familia Bufonidae. Por ejemplo, Johnson (1972) comenta
197 que la temperatura corporal en *Rhinella (Bufo) marina* varió de 17.0-27.2 °C, similar a *S.*

198 *multiplicata*, tal vez esas dos especies comparten similitudes en la piel que conducen a
199 rangos de temperatura similares (Hillman et al. 2009)

200 Durante períodos en los que no pueden termoregularse conductualmente, los
201 anfibios pueden refugiarse en microhábitats subterráneos o bajo objetos de cobertura para
202 protegerse de las temperaturas extremas del aire. Brown y Lee (1969) han demostrado que
203 las temperaturas subterráneas varían poco durante el día. Además, estas temperaturas son
204 muy similares a las temperaturas promedio del aire diario sobre el suelo. Debido a sus
205 hábitos fosoriales, *Spea multiplicata* puede emerger sin perder mucha temperatura corporal
206 y aumentarla rápidamente cuando está sobre la superficie. Esta estrategia de
207 termorregulación es un aspecto importante de la adaptación de *S. multiplicata* a su entorno.

208 Nuestras dos especies de estudio difieren considerablemente en su comportamiento
209 y fenología. *Dryophytes arenicolor* es una rana semiterrestre que está activa casi todo el
210 año, mientras que *Spea multiplicata* es una especie fosorial y solo tiene actividad
211 reproductiva durante los períodos lluviosos. A pesar de las diferencias entre las dos
212 especies de estudio, ambas preferían temperaturas corporales similares en el campo. Esta
213 similitud puede ocurrir porque están expuestos a los mismos factores ambientales y ambos
214 toleran la exposición solar directa, gracias a la estructura de su piel (Hillman et al., 2009).
215 Sin embargo, nuestro estudio evalúa las relaciones térmicas en un ambiente templado
216 donde las temperaturas no llegan a ser tan extremas como en latitudes altas (Wylie, 1981),
217 aunque muchos anuros en los trópicos están bajo estrés constante debido a la fragmentación
218 del hábitat y la contaminación. Encontramos que *Spea multiplicata* cumplía con sus
219 requisitos térmicos al invertir menos tiempo para termorregular que *H. arenicolor*. En
220 contraste, *Dryophytes arenicolor* invierte más tiempo cada día y durante la temporada
221 reproductiva en conductas que le permiten alcanzar la temperatura óptima para
222 reproducirse.

223

224

ACKNOWLEDGEMENTS

225

226 The first author thanks the Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional
227 Autónoma de México and CONACYT for scholarship funding (CVU 294891) also she
228 thanks Manuel Casas and Jorge Daniel López because their support in logistic FRM thanks
229 the Macrosystems Project (NSF) and PAPIIT-UNAM IN210116.

230

231

LITERATURE CITED

232

233 ADDO-BEDIAKO A, CHOWN SL & KJ GASTON (2016) Thermal tolerance, climatic
234 variability and latitude. *Proceedings Royal Society of London B*. 2000: 739-745.

235 BENNETT AF (1990) Thermal-dependence of locomotor capacity. *American Journal*
236 *Physiology*. 259: R253–R258.

237 BROWN JH & AK LEE (1969) Bergmann's rule and climatic adaptation in woodrats
238 (*Neotoma*). *Evolution*. 23: 329-338.

239 HERTZ PE, BR HUEY & RD STEVENSON (1993) Evaluating temperature regulation by
240 field active ectotherms: the fallacy of the inappropriate question. *The American Naturalist*.
241 142: 796-818.

242 HILLMAN SS, WITHERS PC, DREWES RC & SD HILLYARD (2009) *Ecological and*
243 *Environmental Physiology of Amphibians*. Oxford University Press. USA

244 IPCC (2007) *Cambio climático 2007: Informe de síntesis. Contribución de los Grupos de*
245 *trabajo I, II y III al Cuarto Informe de evaluación del Grupo Intergubernamental de*
246 *Expertos sobre el Cambio Climático* Ed. Pachauri, R.K. & A. Reisinger. IPCC, Ginebra,
247 Suiza.

248 JOHNSON CR (1972). Thermal Relations and Daily Variation in the Thermal Tolerance in
249 (*Bufo marinus*). Journal of Herpetology. 6: 35-38.

250 KATZ U, HOFFMAN J & N GIL (1997) What is the ecological significance of laboratory
251 temperature selection in anuran Amphibia? Alytes. 15: 91-98.

252 LILLYWHITE HB, P LICHT & P CHELGREN (1973) The role of behavioral
253 thermoregulation in the growth energetics of the toad (*Bufo boreas*). Ecology. 54: 375-383.

254 LEMOS-ESPINAL J & JR DIXON (2010) Amphibians and reptiles of the state of
255 Querétaro, México. ATM. CONABIO. México.

256 LOWE CH (1964) The Vertebrates of Arizona. University of Arizona Press. Tucson,
257 Arizona.

258 MARTÍNEZ MD, SERRA C, BURGUEÑO A & X LANA (2009) Time trends of daily
259 maximum and minimum temperatures in Catalonia (NE Spain) for the period 1975-2004.
260 International Journal of Climatology. 30: 267-290.

261 NAVAS, CA, Araújo, C (2000) The use of agar models to study amphibian thermal
262 ecology. Journal of Herpetology. 34: 330-334.

263 PASSMORE NI & M MALHERBE (1985) High nocturnal body temperature in the
264 painted red frog (*Hyperolius marmoratus*). Herpetologica. 41: 212-215.

265 PREEST MR, DOUGLAS GB & ML WYGODA (1992) Cutaneous water loss and the
266 effects of temperature and hydration state on aerobic metabolism of Canyon treefrogs,
267 (*Hyla arenicolor*). Herpetologica. 48 :210-219.

268 SCHMID WB (1965) Some aspects of the water economies of nine species of amphibians.
269 Ecology 46: 261-269.

270 SINSCH U (1984) Thermal influences on the habitat preferences and the diurnal activity in
271 the three European (*Rana*) species. Oecología 64: 125-131.

272 SNYDER GK & W WEATHERS (1975) Temperature adaptations in amphibians.
273 American Naturalist, 965: 93-101.

274 SUNDAY JM, BATES AE & NK DULVY (2011) Global analysis of thermal tolerance and
275 latitude in ectotherms. Proceedings of the Royal Society B. 2011: 1823-1830.

276 WELLS KD (2007) The Ecology and Behavior of Amphibians. The University of Chicago
277 Press. Chicago and London.

278

279

280

281

282

283

284

285

286

287

288

289

290

291

292

293

294

295

296

297

TABLE 1

298

Body temperatures (tb), air temperatures (ta) and substrate temperatures (ts) in the field

299

from *Dryophytes arenicolor*.

300

Temperaturas corporales (tc), temperaturas del aire (ta) y temperaturas del sustrato (ts) en

301

campo de *Dryophytes arenicolor*.

	Average	SD	Min	Max
tb	20.96	3.38	14	29.2
ta	14.30	2.55	12	21.4
ts	17.65	2.04	12	22.1

302

303

304

305

306

307

308

TABLE 2

309

Body temperatures (tb), air temperatures (ta) and substrate temperatures (ts) in the field

310

from *Spea multiplicata*.

311

Temperaturas corporales (tc), temperaturas del aire (ta) y temperaturas del sustrato (ts) en

312

campo de *Spea multiplicata*.

	Average	SD	Min	Max
tb	20.52	2.07	16	27.3
ta	17.92	1.99	14.8	25.1
ts	17.35	1.45	14.8	20.8

313

314

315

316

317

318 *Fig. 1: Thermal relations in body temperatures (tb) vs. air temperatures (ta) and body*
319 *temperatures (tb) vs. substrate temperature (ts) in *Dryophytes arenicolor*.*

320 *Relaciones térmicas de las temperaturas corporales (tc) vs. temperaturas del aire (ta) y*
321 *temperaturas corporales vs. temperaturas del sustrato (ts) en *Dryophytes arenicolor*.*

322

323 *Fig. 2: Thermal relations in body temperatures (tb) vs. air temperatures (ta) and body*
324 *temperatures (tb) vs. substrate temperature (ts) in *Spea multiplicata*.*

325 *Relaciones térmicas de las temperaturas corporales (tc) vs. temperaturas del aire (ta) y*
326 *temperaturas corporales vs. temperaturas del sustrato (ts) en *Spea multiplicata*.*

327

328 *Fig. 3: Thermal preferences in *Dryophytes arenicolor* with the operative temperature (to),*
329 *body temperatures (tb) and selected temperature (tset) in laboratory tests.*

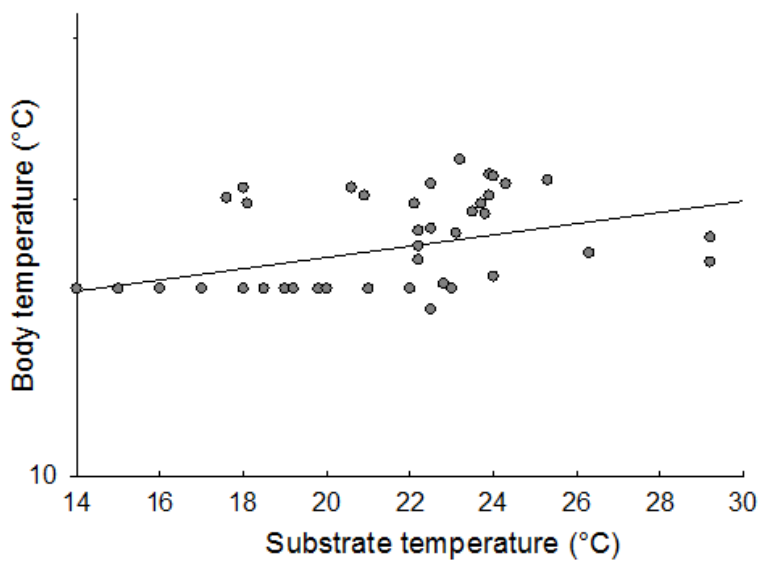
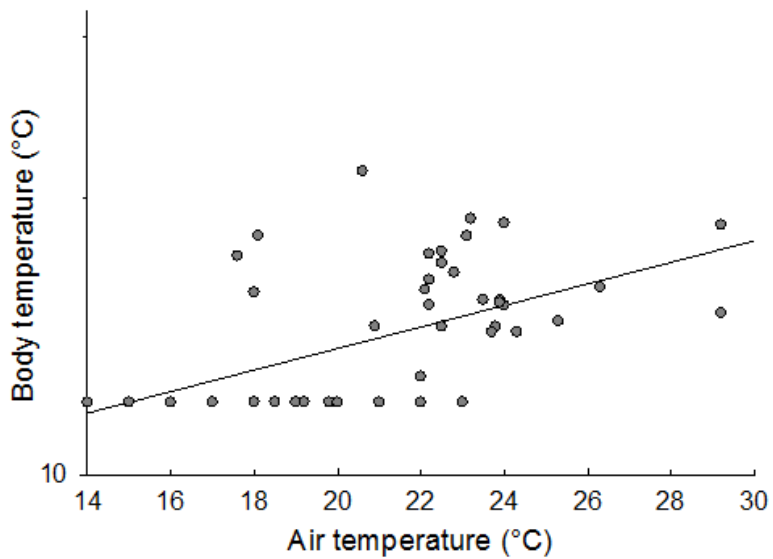
330 *Preferencias térmicas en *Dryophytes arenicolor* con las temperaturas operativas (to),*
331 *temperaturas corporales (tc) y temperaturas seleccionadas (tset) en registros de laboratorio.*

332

333 *Fig. 4: Thermal preferences in *Spea multiplicata* with the operative temperature (to), body*
334 *temperatures (tb) and selected temperature (tset) in laboratory tests.*

335 *Preferencias térmicas en *Spea multiplicata* con las temperaturas operativas (to),*
336 *temperaturas corporales (tc) y temperaturas seleccionadas (tset) en registros de laboratorio.*

337

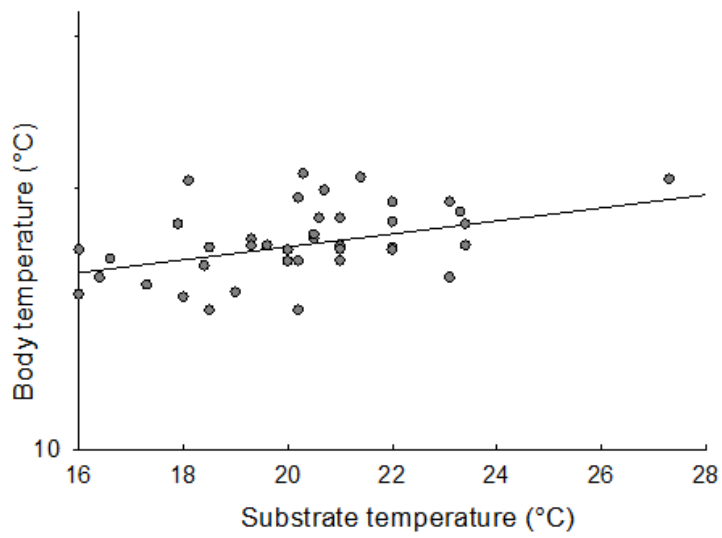
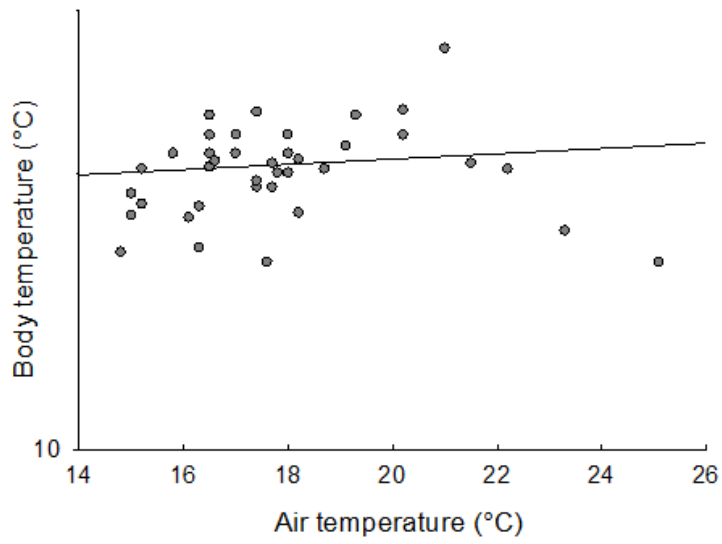


338

339 *Fig. 1*

340

341



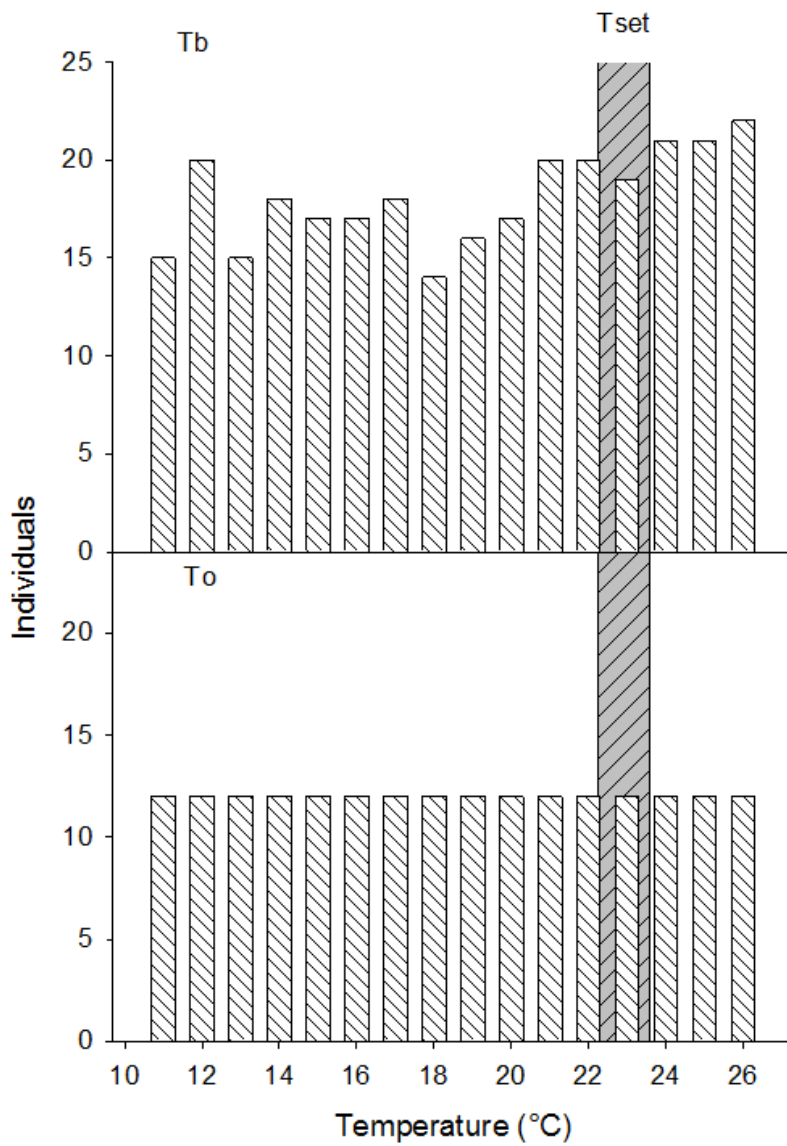
342

343 *Fig.2*

344

345

346



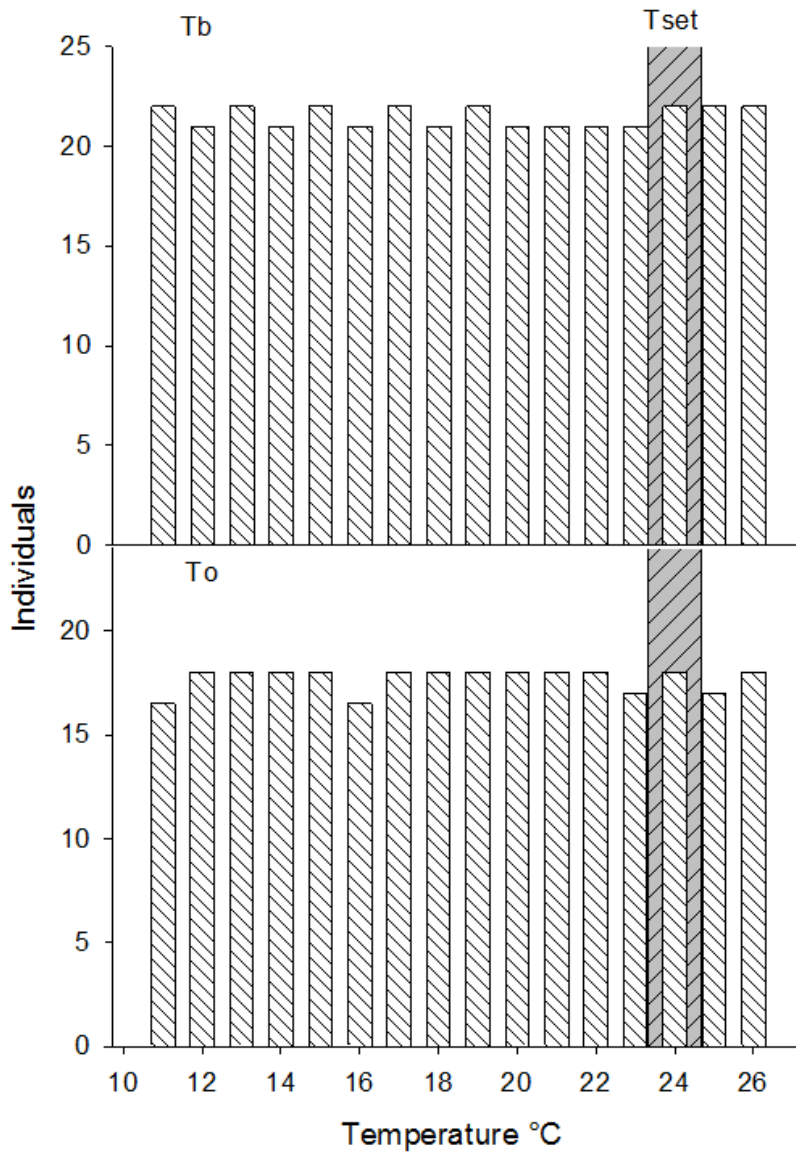
347

348 *Fig.3*

349

350

351



352

353 *Fig.4*

354

355

356

357

358

359

360

CAPÍTULO 3

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23

Efecto del estrés ambiental por radiación UV-B y temperatura en tres anuros de Bosque Templado.

Sandra Fabiola Arias-Balderas^{1,2} and F. R. Méndez de la Cruz²

1 Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, México D.F. C.P. 04510.

2 Departamento de Zoología, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, México D.F. México, C.P. 04510.

*Correspondence e-mail: biolsarias@gmail.com

Type of manuscript-Article

24 **Resumen:** Continuamente en el mundo se registra un incremento en la temperatura y en la
25 radiación UV-B tanto en la superficie como dentro de los ambientes acuáticos, mostrándose a
26 través de cambios estacionales y diferencias geográficas. Esto puede ser altamente negativo para
27 las especies de anuros sobretodo en áreas abiertas donde la radiación es más directa causando
28 daños a nivel individuo y que al generarse más calor en las puestas, se induce a una eclosión y
29 desarrollo temprano o bajo éxito en la sobrevivencia. Las especies con diferencias en estrategias
30 y hábitos podrían o no, contrarrestar esto. Por lo que el determinar el efecto de la temperatura y
31 radiación UV-B en larvas de anuros con requerimientos y fenología diferenciales resulta
32 relevante para realizar aproximaciones dirigidas a otras especies con similar comportamiento y
33 estrategias reproductivas. Para ello se obtuvieron larvas de cada especie y se realizaron
34 experimentos con un método modificado de Blaustein *et al.*, 1998, en lo que se refiere a la
35 temperatura se realizó un experimento similar bajo tres diferentes temperaturas. Los resultados
36 obtenidos muestran diferencias significativas entre las tres especies de estudio, así como efectos
37 negativos en la sobrevivencia para la especie con hábitos semiacuáticos (*Hyla eximia*), mientras
38 que la de hábitos fosoriales (*Spea multiplicata*) resulta menos afectada, el tiempo a la
39 metamorfosis también mostró diferencias entre tratamientos y especies $P < 0.001$, la cual se
40 aceleró a mayor temperatura y radiación UV-B. Las tres especies presentan afectaciones; sin
41 embargo, éstas parecen incrementar cuando la piel es más delgada y la especie está más ligada a
42 los ambientes acuáticos.

43 **Abstract.** Continuously in the world there is an increase in temperature and UV-B radiation, both
44 on the surface and within aquatic environments, showing through seasonal changes and
45 geographical differences. This can be highly negative for anuran species, especially in open areas
46 where radiation is more direct, causing damage at the individual level, and when more heat is
47 generated in the sunsets, it is inducing to hatch and early development and growth or a decrease

48 success in survival. Species with differences in strategies and habits may or may not offset this.
49 Therefore, determining the effect of temperature and UV-B radiation on larvae of anurans with
50 differential requirements and phenology is relevant to perform approximations directed to other
51 species with similar behavior and reproductive strategies. Larvae of each species were obtained
52 and experiments were carried out with a modified method by Blaustein et al., 1998. In terms of
53 temperature, a similar experiment was carried out under three different temperatures. The results
54 show significant differences between the three species of study, as well as negative effects on
55 survival for the species with semi-aquatic habits (*Hyla eximia*), while that of fossorial habits
56 (*Spea multiplicata*) is less affected, time to metamorphosis also showed differences between
57 treatments and species $P < 0.001$, which accelerated at higher temperature and UV-B radiation.
58 The three species have affectations; however, they seem to increase when the skin is thinner and
59 the species is more linked to aquatic environments.

60 **Keywords:** anurans, exposition, environmental stress

61

62 **Introducción:**

63 La Radiación UV-B ha sido registrada como uno de los factores que tienen mayor
64 impacto negativo en los organismos acuáticos (Häder, 2007). Continuamente en el mundo,
65 estaciones meteorológicas reportan un incremento en la radiación UV-B y en la temperatura tanto
66 en la superficie como dentro de los ambientes acuáticos, los cuales se muestran a través de
67 cambios estacionales y diferencias geográficas (McKenzie *et al.*, 2007).

68 Se ha observado que la radiación UV-B, la cual abarca de los 290-320nm puede ser
69 altamente negativa para las especies de anfibios, sobretodo en áreas abiertas donde la radiación es
70 más directa (Blaustein et al. 1998). Entre las afectaciones principales, se encuentran: muerte
71 celular, así como mutaciones o deformidades en los organismos y se ha corroborado su efecto en

72 una tasa de crecimiento lento de individuos, daños al sistema inmune e inducción de daños que
73 pueden ser letales (van der Leun y Borman 1998; Bancroft et al. 2007; Frías-Alvarez et al. 2010).

74 Adicionalmente esta radiación genera mucho más calor en las puestas, lo que induce
75 una eclosión y desarrollo más temprano; o bien, más rápido de lo normal y dichos daños han sido
76 observados tanto en el medio silvestre como en laboratorio por diversas instituciones (Blaustein,
77 2001^{a,b}). Con respecto al bajo éxito en las eclosiones de larvas de anfibios se pueden encontrar
78 registros en algunas especies de *Ambystoma* (Blaustein, 1998); *Bufo bufo* (Lizana y Pedraza,
79 1998); *Litoria verreauxii* y *Crinia signífera*, en Australia (Broomhall et al. 1999); *Hyla*
80 *cadaverina* y *Taricha torosa* (Anzalone et al. 1998) y *Rana arvalis* (Häkkinen et al. 2001), entre
81 otros.

82 Existen registros que indican que la temperatura que se presente en un embrión afecta
83 de manera directa a su ritmo de desarrollo y tiempo de incubación (Zweifel 1968 ; Salthe y
84 Mecham 1974) . Por otra parte, la tasa de desarrollo de un embrión a una temperatura dada está
85 influenciada por la temperatura a la que está adaptado (Bachmann, 1969).

86 Asimismo se tienen datos de que la exposición a UV-B en adultos causan daños
87 fisiológicos (Ankley et al. 2000), desarrollo lento (Belden et al. 2000; Pahkala et al. 2001);
88 anomalías durante todas las etapas del desarrollo (Blaustein et al. 2005); así como alteraciones en
89 el comportamiento de algunos anfibios (Kats et al. 2000). Si a ello le sumamos los efectos que
90 pueden presentarse por temperaturas críticas la respuesta podría ser catastrófica. Resultado de los
91 efectos que la temperatura puede tener en anfibios es un bajo desempeño locomotor (Prest y
92 Pough, 2003). Pese a esto, algunas veces la exposición durante la etapa embrionaria o larvaria
93 pueden no mostrar efectos, tal es el caso de *Rana temporaria* (Pahkala et al. 2001).

94 *Hyla arenicolor*, *Hyla eximia* y *Spea multiplicata* son anuros que presentan
95 características fisiológicas, hábitos y fenología diferente (Hillman et. al., 2009). Pero comparten

96 el desarrollo de larvas libre nadadoras. Actualmente la invasión de sus hábitats por influencia
97 humana que continuamente fragmentan creando espacios donde la radiación es más directa, así
98 como la alteración en los regímenes de lluvias y el creciente aumento de temperatura han
99 propiciado que la presencia de estas especies vaya menguando. Por lo que el objetivo de este
100 trabajo es determinar el efecto de Radiación UV-B y la temperatura en la sobrevivencia de larvas
101 de estas tres especies de anuros con requerimientos y fenología diferenciales.

102 **Materiales y Métodos:**

103 Se obtuvieron larvas de las diferentes especies en el estadio 26 (Gosner, 1960), de
104 tres charcas en Sierra de Guadalupe, Estado de México para posteriormente llevarlas al
105 laboratorio y comenzar con los experimentos relacionados con el efecto de incidencia UV-B y
106 temperatura. Para el caso de radiación UV-B se colocaron en bloques de 4x4x4, es decir, se
107 dispusieron cuatro larvas de cada especie en recipientes de plástico de 200ml de capacidad
108 divididos en cuatro exposiciones diferentes de radiación UV-B (5%, 80% 95% y 100% más el
109 grupo control) y cuatro repeticiones (N=80). Para ver el efecto de la Temperatura se realizó otro
110 experimento muy similar al anterior pero con tres diferentes temperaturas (19°, 22° y 25°C más
111 el grupo control) y cuatro repeticiones (N=64) para de esta manera, crear un gradiente de estos
112 estresores tomado con base en datos de campo y datos registrados en la literatura. Para crear las
113 diferentes exposiciones a UV-B se obtuvieron de manera similar al método que sugiere
114 (Blaustein et.al., 1998) modificando los filtros por mallas de plástico de 0.7 a 1mm de luz, las
115 cuales se dispusieron de modo simple o doble para permitir el paso de cierto porcentaje de luz, la
116 cual se estandarizó previamente y de este modo crear el gradiente explicado anteriormente. En el
117 caso del gradiente de temperatura se dispusieron los tratamientos en sitios acondicionados
118 mediante calentadores de gas con las temperaturas ya descritas. Con los datos obtenidos se

119 realizó un Análisis de Supervivencia de Kaplan-Meier, y se comprobó también por medio de un
120 análisis de Kruskal-Wallis para conocer si se observaban diferencias.

121 **Resultados:**

122 El análisis de Kaplan-Meier para radiación UV-B mostró una supervivencia de un
123 organismo por repetición en promedio en el 80% de exposición, la cual inicia la metamorfosis
124 aproximadamente a los ocho días para el caso de *S. multiplicata* e *H. arenicolor* y en el caso de
125 *H. eximia* en promedio dos organismos inician metamorfosis a los ocho días de inicio del
126 tratamiento, tomando en cuenta que el inicio de la metamorfosis se considera cuando aparecen las
127 primeras extremidades, mientras que en la exposición al 95% y 100% se observó mortalidad total
128 en *H. arenicolor* e *H. eximia* a los siete y ocho días respectivamente, siendo únicamente *S.*
129 *multiplicata* la que logra iniciar la metamorfosis a los seis días aproximadamente (Fig. 1).

130 En lo que se refiere al efecto de la temperatura se pudo observar que no se obtuvo
131 gran mortalidad en los tratamientos de 19°C, donde en promedio quedan tres organismos por
132 repetición a lo largo del experimento y comienzan metamorfosis en el caso de *S. multiplicata* a
133 los siete días, *H. arenicolor* a los 15 días e *H. eximia* a los 20 días. A los 22°C el inicio de la
134 metamorfosis es más rápido y son dos organismos por repetición los que lo logran de las tres
135 especies, mientras que a los 25°C solo un organismo por repetición en de *S. multiplicata* inicia la
136 metamorfosis a los seis días, pero para el caso de *H. arenicolor* e *H. eximia* ningún organismo
137 logra llegar al inicio de la metamorfosis puesto que a los ocho días todos los organismos
138 murieron en ambas especies (Fig. 2).

139 **Discusión:**

140 Häder, et.al., (2007) registra que la radiación UV-B puede ser uno de los factores más
141 importantes que afectan la estructura de comunidades en los sistemas acuáticos. Esto, aunado a
142 la alta mortalidad registrada en anfibios durante las últimas décadas por este factor, da un

143 panorama acerca de la importancia de saber la forma en que las especies, en este caso de anfibios
144 están siendo afectados principalmente en zonas donde prácticamente no se ha estudiado el
145 impacto que genera esta radiación, tal y como resultó en este caso. La rápida mortandad de los
146 renacuajos en los tratamientos con mayor exposición de radiación, nos indica la susceptibilidad
147 que estos organismos tienen ante el aumento de zonas deforestadas y por lo tanto mayormente
148 expuestas no solo a la radiación sino al aumento de la temperatura (Achard *et. al.* 2002).

149 Aunado a la alta mortandad, el período que compete a la metamorfosis se acelera,
150 registrándose en este caso prematura para el caso de *H. arenicolor* e *H. eximia* en el tratamiento
151 de 80% de exposición, lo que puede traer consecuencias negativas durante su desarrollo
152 (Blaustein, et.al., 1998). *S. multiplicata* resultó la menos afectada, esto pudiéndose deber a
153 características propias de su morfología y fisiología, sin embargo, en muchos otros trabajos
154 también se han registrado efectos nulos o minúsculos en algunas especies y sólo en sinergia con
155 otros factores como temperatura y nitratos, entre otros, tienen efectos negativos para las
156 poblaciones (Hatch y Blaustein, 2003), o bien, también se ha podido observar que en poblaciones
157 de montaña, a nivel regional y probablemente de altitud pueden existir diferencias en el grado de
158 sensibilidad en la exposición de radiación UV-B (Belden y Blaustein, 2002), lo que es posible
159 que haya surgido en el caso de al menos dos de las tres especies estudiadas que presentan una
160 distribución amplia (*H. arenicolor* y *S. multiplicata*), además, la exposición a la radiación UVB
161 puede ser especialmente significativa para aquellas especies de anfibios en las cuales las
162 presiones de selección han dado lugar a comportamientos que los exponen relativamente a
163 grandes dosis de radiación solar (Blaustein y Bancroft, 2007) como ocurre con *H. arenicolor* la
164 cual aunque se conoce su resistencia a la deshidratación, sí resulto afectada por estos dos factores.

165 De manera similar al efecto de la Radiación UV-B, la temperatura también jugó un
166 papel crucial en la sobrevivencia de los organismos, presentándose mayor mortandad a niveles

167 más altos de temperatura tal y como lo registra (Laugen, et. al., 2003) en un estudio con *Rana*
168 *temporaria*, donde la sobrevivencia de los embriones se redujo en las más altas temperaturas en
169 todas las poblaciones lo cual indica que dichas temperaturas resultaban estresantes para ellos. Por
170 otra parte, las temperaturas más altas también influyeron en el tiempo a la metamorfosis
171 acelerando este proceso, tal y como se ha observado en varias especies (Blaustein, 2001^{a,b}).

172 Estas especies, sin embargo podrían compensar las altas temperaturas al seleccionar
173 ciertos sitios que se encuentran en zonas de mayor elevación donde la temperatura es menor,
174 dichas zonas de montaña podrían servirles como refugios térmicos compensando de alguna
175 manera el cambio climático, no obstante, deberían encarar al desafío de una mayor exposición a
176 la radiación solar UV-B, ya que está bien documentado que dicha radiación tiende a
177 incrementarse conforme aumenta la altitud debido a que la atmósfera es más transparente y
178 limpia de contaminantes y esto puede afectar a la vegetación de éstas zonas al someterlas a mayor
179 estrés (Turunen and Latola, 2005), lo cuál afectaría directamente en la sobrevivencia de los
180 anfibios principalmente al carecer de la cobertura vegetal necesaria para compesar la cantidad de
181 radiación UV-B a la que se enfrentarían.

182 A manera de conclusión, lo registrado en el presente trabajo, puede tener gran
183 importancia dado que muchas zonas donde habitan las especies de estudio, no sólo a nivel local
184 sino regional se continúa con la fragmentación del hábitat, cambio de uso de suelo, entre otras,
185 que repercuten en la calidad de zonas sombreadas, refugios y vegetación en los cuerpos de agua
186 que habitan y que son necesarios para su reproducción y que a su vez genera zonas abiertas y con
187 mayor radiación y temperatura, que en sinergia pueden causar efectos devastadores en éstas y
188 otras especies que tienen similares hábitos y estrategias reproductivas.

189

190 **Agradecimientos:** El primer autor establece que este artículo es un requisito para obtener el
191 grado de Doctora en Ciencias Biológicas en el Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM y le
192 agradece al Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México y al
193 CONACYT por la beca escolar (CVU 294891), también agradece a Elisa Pamela Mendoza
194 Argueta, Lizbeth Viridiana González Guevara, Jorge Daniel López y Manuel Casas Godoy por la
195 ayuda en la colecta y logística en la metodología. FRM agradece al Proyecto Macrosystems.

196 **Literatura Citada:**

- 197 • Achard, F., H. D. Eva, H. J. Stibig, P. Mayaux, J. Gallego, T. Richards, y J.-P. Malingreau.
198 2002. Determination of deforestation rates of the world's humid tropical forests. *Science* 297:
199 999-1002.
- 200 • Ankley, G. T., Tietge, J. E., Holcombe, G. W., De Foe, D. L., Diamond, S. A., Jensen, K. M.
201 y S. J. Degitz. 2000. Effects of laboratory ultraviolet radiation and natural sunlight on
202 survival and development of (*Rana pipiens*). *Canadian Journal of Zoology* 78: 1092–1100.
- 203 • Anzalone C. R., Kats, L. B. y M. S. Gordon. 1998. Effects of solar UV-B radiation on
204 embryonic development in (*Hyla cadaverina*, *Hyla regilla* and *Taricha torosa*). *Conservation*
205 *Biology* 12: 646–653.
- 206 • Bachmann, K. 1969. Temperature adaptation of amphibian embryos, *American Naturalist*.
207 103:115-130.
- 208 • Bancroft, B. A., Baker, N. J. y A. R. Blaustein. 2007. The effects of UVB radiation in marine
209 and freshwater organisms: a synthesis through meta-analysis. *Ecology Letters* 10:332–345.

- 210 • Belden, L. K. y A. R. Blaustein. 2002. Exposure of redlegged frog embryos to ambient UV-B
211 radiation in the field negatively affects larval growth and development. *Oecologia* 130:551-
212 554.
- 213 • Belden, L. K., E. L. Wildy, y A. R. Blaustein. 2000. Growth, survival and behaviour of larval
214 long-toed salamanders (*Ambystoma macrodactylum*) exposed to ambient levels of UV-B
215 radiation. *Journal of Zoology*. 251:473-479.
- 216 • Blaustein, A. R. y B. A. Bancroft. 2007. Amphibian Population Declines: Evolutionary
217 Considerations. *BioScience*. 5(57):437-444.
- 218 • Blaustein, A. R., Belden, L. K., Hatch, A. C., Kats, L. B., Hoff man, P. D., Hays, J. B.,
219 Marco, A., Chivers, D. P. y Kiesecker, J.M. 2001a. Ultraviolet radiation and amphibians. In:
220 C. S. Cockell y A. R. Blaustein (Eds.) *Ecosystems, Evolution, and Ultraviolet Radiation*, pp.
221 63-79. Springer-Verlag, New York.
- 222 • Blaustein, A. R., Belden, L. K., Olson, D. H., Green, D. M., Root, T. L. y J. M. Kiesecker.
223 2001b. Amphibian breeding and climate change. *Conservation Biology*. 15:1804–1809.
- 224 • Blaustein, A. R., Kiesecker, J. M., Chivers, D. P., Hokit, D. G., Marco, A., Belden, L. K. y A.
225 Hatch. 1998. Effects of ultraviolet radiation on amphibians: field experiments. *American*.
226 *Zoologist*. 38:799-812.
- 227 • Blaustein, A. R., Romansic, J. M. y E. A. Scheessele. 2005. Ambient levels of ultraviolet-B
228 radiation cause mortality in juvenile western toads, (*Bufo boreas*). *American Midland*
229 *Naturalist* 154:375–382.

- 230 • Broomhall, S.D., Osborne, W.S., Cunningham, R. B. 1999. Comparative effects of ambient
231 ultraviolet-B radiation on two sympatric species of Australian frogs. *Conservation Biology*
232 14: 420–427.
- 233 • Frías-Alvarez, P. Zúñiga-Vega, J. y Parra-Olea, G. 2010. UV-B radiation severely affects
234 embryo development in the Mexican axolotl. *Animal Biology*: 60:299-318.
- 235 • Gosner, K. L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on
236 identification. *Herpetologica*. 16:183-190.
- 237 • Häder, D. P., Kumar, H. D., Smith, R. C. y R. C. Worrest. 2007. Effects of solar UV radiation
238 on aquatic ecosystems and interactions with climate change. *Photochemical &*
239 *Photobiological Sciences*. 6:267-285.
- 240 • Häkkinen, J., Pasanen, S., Kukkonen, J. V. K. 2001. The effects of solar UV-B radiation on
241 embryonic mortality and development in three boreal anurans (*Rana temporaria*, *Rana*
242 *arvalis* and *Bufo bufo*). *Chemosphere*. 44: 441–446.
- 243 • Hach, A. C. y A. R. Blaustein. 2003. Combined Effects of UV-B Radiation and Nitrate
244 Fertilizer on Larval Amphibians. *Ecological Applications*. 4 (13):1083-1093. Hillman S. S,
245 Withers P. C., Drewes R. C. & S. D. Hillyard. 2009. *Ecological and Environmental*
246 *Physiology of Amphibians*. Oxford University Press. USA
- 247 • Kats, L. B., J. M. Kiesecker, D. P. Chivers, y A. R. Blaustein. 2000. Effects of UV-B
248 radiation on anti-predator behavior in three species of amphibians. *Ethology*. 106:921-931.
- 249 • Laugen, A. T., Laurila, A. y J. Merilä. 2003 . Latitudinal and temperature-dependent variation
250 in embryonic development and growth in (*Rana temporaria*). *Oecologia*. 135:548-554.

- 251 • Lizana, M. y E. M. Pedraza. 1998. The effects of UV-B radiation on toad Mortality in
252 mountainous areas of central Spain. *Conservation Biology*. 12:703–707.
- 253 • McKenzie, R. L., Aucamp, P. J., Bais, A. F., Björn, L. O. y M. Ilyas. 2007, Changes in
254 biologically active ultraviolet radiation reaching the Earth's Surface. *Photochemical &*
255 *Photobiological Sciences*. 6:218-231.
- 256 • Pahkala, M., L., A., Björn, L. Olof y M., Juha. 2001. Effects of Ultraviolet-B Radiation and
257 pH on Early Development of the Moor Frog (*Rana arvalis*). *The Journal of Applied Ecology*.
258 38 (3):628- 636.
- 259 • Preest, M. R. y F. H. Pough. 2003. Effects of Body Temperature and Hydration State on
260 Organismal Performance of Toads, (*Bufo americanus*). *Physiological and Biochemical*
261 *Zoology*. 76(2):229–239.
- 262 • Salthe, S. N. and J. S. Mecham. 1974. Reproductive and courtship patterns. In B. Lofts (ed.),
263 *Physiology of the Amphibia*. Academic Press, New York. 309-521 pp.
- 264 • Turunen, M. and K. Latola. 2005. UV-B radiation and acclimation in timberline plants.
265 *Environmental pollution*.
- 266 • van der Leun, J. C., y J. F. Borman. 1998. *Environmental effects of ozone depletion*. Elsevier,
267 Switzerland. 300p.
- 268 • Zweifel, R. G. 1961. Larval Development of the Tree Frogs *Hyla arenicolor* and *Hyla*
269 *wrightorum*. *American Museum Novitates*. 2056:1-19.
- 270

271
272
273 Fig. 1 Inicio de la metamorfosis y sobrevivencia de las tres especies de anuros bajo diferente
274 grado de exposición a UV-B, las líneas verticales de color negro indican el comienzo a la
275 metamorfosis.

276 Fig. 2 Inicio de la metamorfosis y sobrevivencia de las tres especies de anuros bajo diferentes
277 temperturas, las líneas verticales de color negro indican el comienzo a la metamorfosis.

278
279
280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294

295
 296
 297
 298
 299
 300
 301
 302
 303
 304
 305
 306
 307
 308
 309
 310
 311
 312
 313
 314
 315
 316
 317
 318

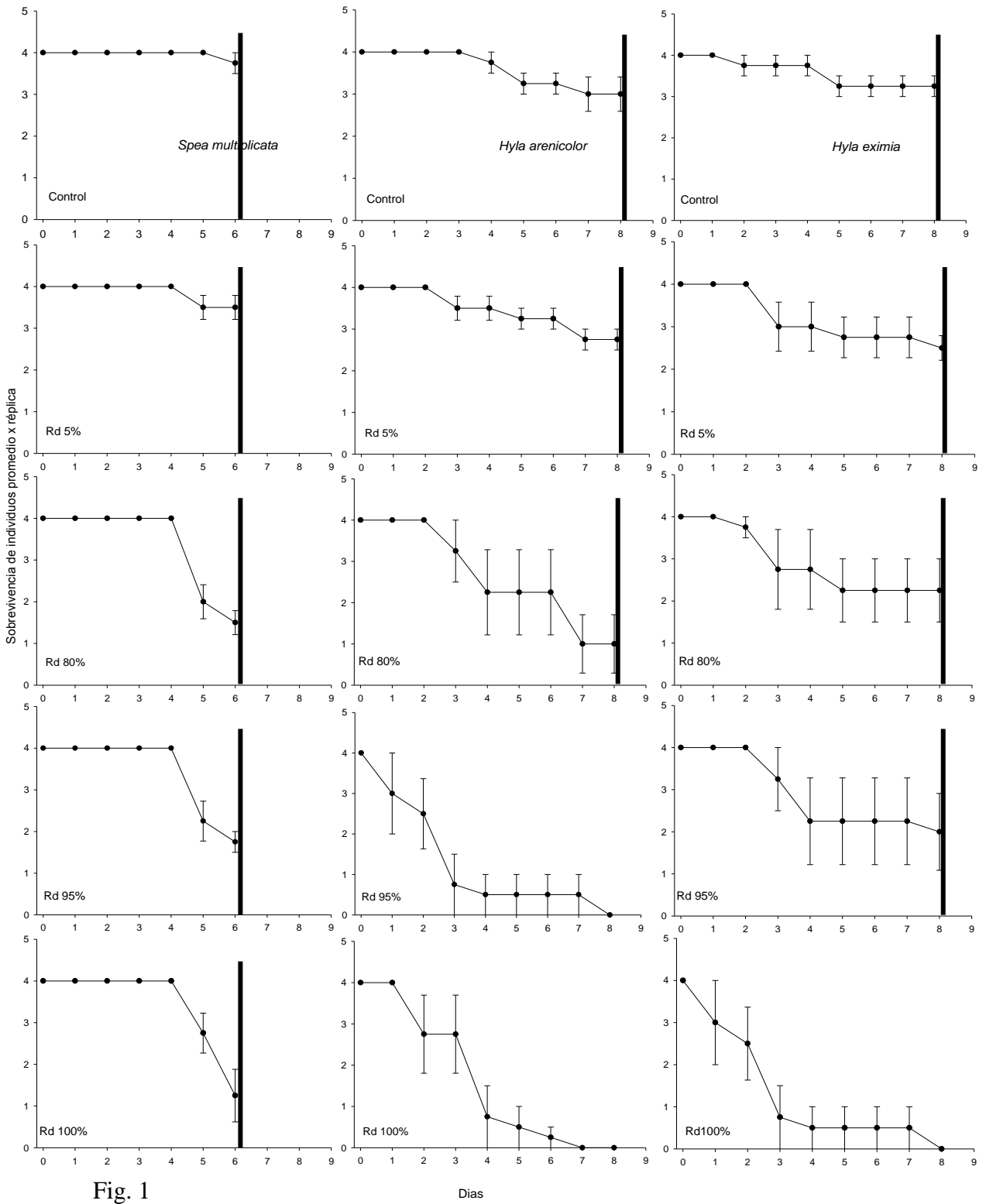


Fig. 1

319
320
321
322
323
324
325
326
327
328
329
330
331
332
333
334
335
336
337
338
339
340
341
342

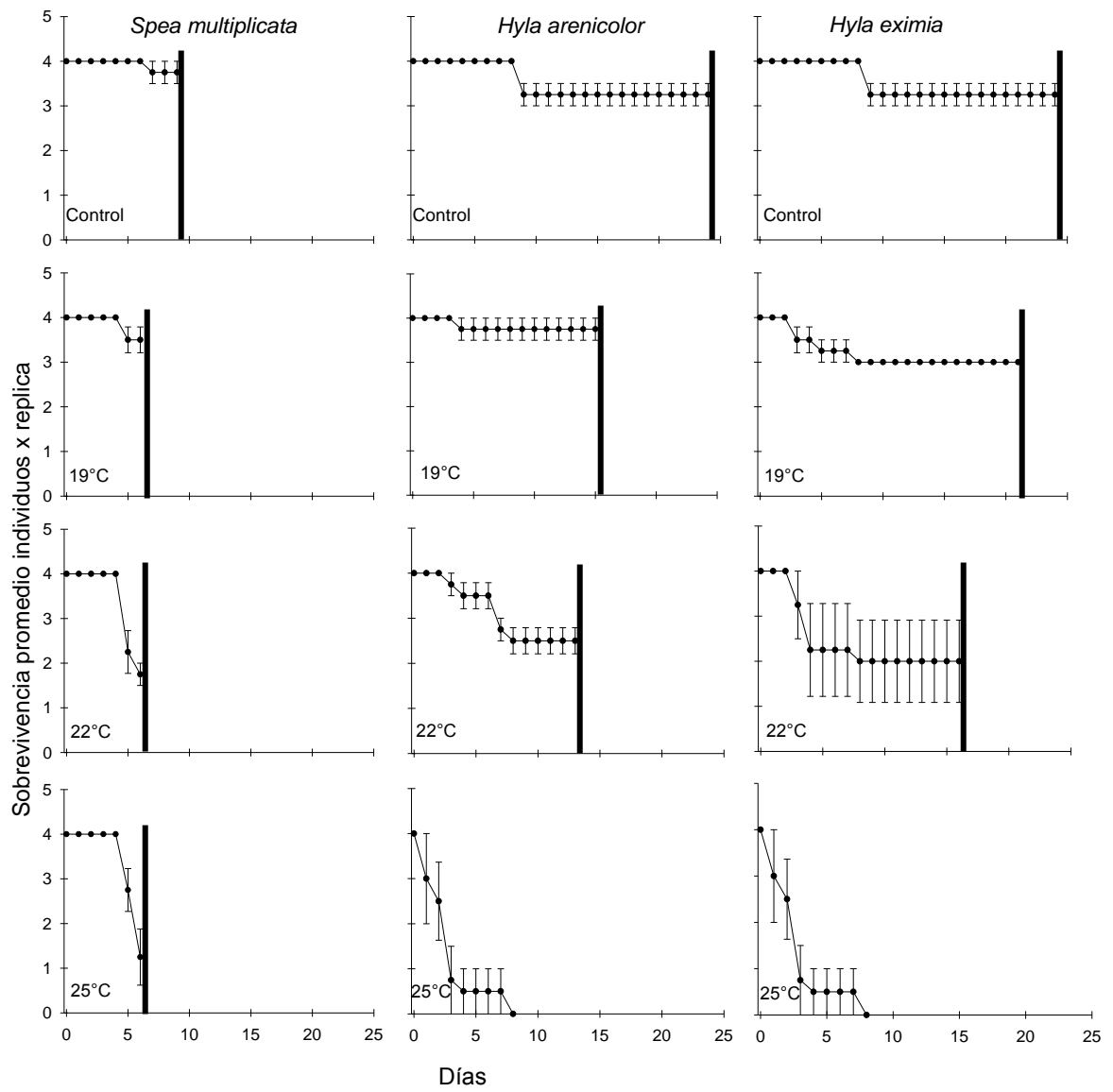


Fig. 2

CAPÍTULO 4

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23

Efecto de la temperatura y deshidratación en tres anuros de Bosque Templado.

Sandra Fabiola Arias-Balderas¹ and F. R. Méndez de la Cruz²

1 Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, México D.F. C.P. 04510.

2 Departamento de Zoología, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, México D.F. México, C.P. 04510.

*Correspondence e-mail: biolsarias@gmail.com

Type of manuscript-Article

Total words -

Words in abstract –

24 **Resumen:** En organismos ectotermos como los anfibios, la temperatura ambiental tiene gran
25 influencia en el uso y asimilación de la energía y en la manera de obtener recursos e interactuar,
26 repercutiendo directamente en la historia de vida de los mismos. Algunos estudios registran que
27 la temperatura tiene efectos fisiológicos en varias conductas de los anfibios, tal es el caso de la
28 locomoción, la cual puede verse afectada o modificada en su totalidad. El reciente cambio
29 climático ha traído fluctuaciones continuas en temperatura, humedad y estacionalidad, lo que
30 puede ser un grave problema para especies de anuros que involucran hábitos y estrategias ligadas
31 a estos factores. Por lo que el analizar el efecto de la temperatura y la humedad en la locomoción
32 de tres especies de anuros (*Hyla arenicolor*, *Hyla eximia* y *Spea multiplicata*) con diferentes
33 estrategias y conductas resulta ser de gran importancia para conocer el grado de afectación a
34 éstos. Para ello, se obtuvieron 15 organismos adultos de cada especie y se realizaron
35 experimentos de acuerdo con el método de Prest & Pough, 2003. Los resultados muestran
36 diferencias significativas entre las tres especies ($P < 0.001$), así como efectos negativos en las
37 respuestas locomotoras y de Punto Crítico de Actividad para *H. eximia* de hábitos semiacuáticos,
38 mientras que *H. arenicolor* (semiterrestre), tiene menor afectación; por otra parte, *S. multiplicata*
39 (fosorial) resulta la especie que más pronta recuperación presenta en cuanto al Punto Crítico de
40 Actividad. Esto puede brindar un panorama de posibles especies susceptibles ante cambios
41 climáticos ineludibles.

42 **Palabras clave:** Punto Crítico de Actividad, desempeño locomotor, anuros

43 **Abstract.** Ectothermic organisms such as amphibians, environmental temperature has a great
44 influence on the use and assimilation of energy and how to obtain resources and interact, directly
45 affecting their life history. Some studies record that the temperature has physiological effects in
46 several behaviors of the amphibians, such is the case of locomotion, which can be affected or
47 modified in its entirety. The recent climate change has brought continuous fluctuations in

48 temperature, humidity and seasonality, which can be a serious problem for anuran species that
49 involve habits and strategies linked to these factors. Therefore, analyzing the effect of
50 temperature and humidity on the locomotion of three species of anurans (*Hyla arenicolor*, *Hyla*
51 *eximia* and *Spea multiplicata*) with different strategies and behaviors is of great importance to
52 know the degree of affectation to them. To accomplish this, 15 adult organisms of each species
53 were obtained and experiments were carried out according to the method of Preest & Pough,
54 2003. The results show significant differences between the three species ($P < 0.001$), as well as
55 negative effects on the locomotor responses and of Activity Critical Point for *H. eximia* with
56 semiaquatic habits, while *H. arenicolor* (semi-terrestrial), has less affectation; on the other hand,
57 *S. multiplicata* (fossorial) is the species that has the fastest recovery in terms of the Critical
58 Activity Point. This can provide an overview of possible susceptible species in the face of
59 unavoidable climatic changes.

60 **Keywords:** Critical Activity Point, locomotor performance, anurans

61

62 **Introducción:**

63 La temperatura no solo ejerce influencia sobre la distribución geográfica, sino que
64 también afecta la periodicidad de la precipitación (Blaustein *et al.*, 1994; Wells, 2007). Una
65 sequía periódica disminuye a menudo el tamaño de las poblaciones locales de anfibios (Dodd,
66 1993, 1994; Jedrzejewska *et al.*, 2003; Daszak *et al.*, 2005), debido a que estas especies son
67 dependientes del agua en diferentes aspectos, como son: su alta permeabilidad cutánea y su
68 elevado requerimiento hídrico (Boutilier *et al.*, 1997; Corn, 2005).

69 Muchos anfibios llegando al estado adulto evitan la pérdida de agua al recorrer largas
70 distancias en busca de niveles óptimos de humedad en suelo y evitando temperaturas cercanas a
71 los 40° C (Pounds y Crump, 1989; Kayes *et al.*, 2009). La temperatura y el agua actúan juntos

72 determinando las redes de producción primaria en cuanto a la cantidad de energía que puede
73 tomarse del ambiente, lo que restringe el número de especies que coexisten (Wright 1983; Jetz &
74 Rahbek 2002; Hawkins et al 2003a), en este caso los anfibios.

75 Se ha observado también que la concentración de O₂ disponible en el medio se reduce
76 cuando hay un aumento de temperatura. Esto ocasiona que muchos anfibios en medios con poca
77 humedad tengan problemas de respiración y mueran de hipoxia (Wells, 2007).

78 En casi todos los anfibios el CO₂ se elimina rápidamente a través de la piel. Por lo
79 que anfibios que tienen restricciones de humedad en el ambiente o los períodos de lluvias se han
80 visto afectados durante mucho tiempo, ocasionan que la piel sufra una deshidratación grave y
81 tenga efectos fisiológicos perjudiciales (Wells, 2007). Es por ello que se han documentado los
82 efectos que puede ocasionar la temperatura y la deshidratación en los anuros, siendo mayormente
83 afectados en su motricidad lo cual desencadena problemas en la alimentación, migración, etcétera
84 (Tracy, et. al., 2007).

85 *Spea multiplicata*, *Hyla arenicolor* e *Hyla eximia* son tres especies de anuros que
86 coexisten normalmente en ambientes de zonas templadas a semiáridas desde Estados Unidos
87 hasta el norte de Oaxaca para el caso de las dos primeras y en la meseta central mexicana para el
88 caso de *H. eximia*, las tres especies tienen hábitos, conductas y estrategias reproductivas
89 diferentes. Sin embargo, las tres necesitan de cuerpos de agua para la eclosión y crecimiento de
90 las larvas y de las tres solo existen datos escasos de su biología y ecología. Entonces, es necesario
91 conocer los rangos de tolerancia a alta temperatura y la tolerancia fisiológica a la desecación de
92 estas especies que además tienen requerimientos diferenciales, por lo que se plantearon como
93 objetivos principales el analizar el efecto de la temperatura y la humedad en la tasa de
94 deshidratación de estos tres anuros y realizar pruebas de desempeño y punto crítico de actividad
95 para conocer el efecto de estos dos factores en la motricidad de las mismas.

96 **Material y Métodos:**

97 Para conocer el efecto de la deshidratación de los organismos se realizó un diseño
98 experimental en donde se tienen 4 condiciones experimentales, dos en Sol (seco y húmedo) y dos
99 en Sombra (seco y húmedo; Fig 4). Cada condición experimental consiste de un modelo de agar
100 siguiendo la metodología de (Navas y Araujo, 2000) de cada especie estudiada, idealmente
101 “conectados a un datalogger”. En campo (en lugares donde se conoce que se reproducen los
102 anfibios) y más importante aún, en sitios donde existen extirpaciones de estos anfibios, se
103 colocaron los modelos, los cuales se reemplazaron en promedio cada cuatro horas, cubriendo un
104 ciclo completo de 24 horas por localidad. Finalmente con estos datos se obtienen por el peso
105 perdido a lo largo del día la Tasa de deshidratación para cada especie (Sinervo, et. al., com. pers)

106 También se procedió a la calibración de los modelos con 15 organismos de cada
107 especie para conocer la Tasa de deshidratación, donde, se pusieron a organismos adultos en la
108 zona de estudio a la par de los modelos delimitando el área con un cuadro de 1.50 por 2.00m con
109 una malla plástica de 1mm de apertura creando un semicautiverio, a los organismos se les tomó
110 foto lateral y del dorso para identificarlas con base en su patrón de manchas, y se monitoreo la
111 temperatura corporal y el peso al inicio y cada quince minutos durante el período de actividad y
112 posteriormente por medio de regresiones lineales se obtuvo la calibración de los modelos con los
113 organismos de cada especie. Para el caso de las pruebas de desempeño se siguió la metodología
114 de Preest y Pough (1989), donde se midió la distancia en la que se movía cada especie mediante
115 locomoción forzada a tres temperaturas diferentes (15°, 20° y 30°C) y tres diferentes grados de
116 humedad (30%, 70% y 100%), el día de la prueba se vació su vejiga como lo indicó la
117 metodología. Todas las pruebas se realizaron entre las 13:00 y las 18:00 h. Se les tomó la
118 temperatura y se pesaron, así mismo se registró la distancia cada minuto durante diez minutos, se
119 detectó el peso para asumirlo como la masa estándar. La temperatura corporal y la masa se

120 midieron al final de cada ensayo y los valores inicial y final se promediaron para dar la
121 temperatura corporal y estado de hidratación promedio durante la prueba. Entre cada prueba se
122 les suministró agua a los animales y se dejaron por lo menos 14 horas para rehidratarse. Con los
123 datos obtenidos se realizaron pruebas de Anova y t-student para determinar las diferencias entre
124 los tratamientos.

125 **Resultados:**

126 La línea de tendencia en la calibración de los modelos muestra claramente que éstos
127 reflejan la pérdida de agua y temperaturas de las especies estudiadas (Fig. 1 y Fig. 2). Las
128 regresiones lineales para conocer la relación entre las variables de temperatura y pérdida-
129 ganancia de agua muestran una relación en *S. multiplicata* de $R^2 = 0.930$ y $R^2 = 0.965$
130 respectivamente. En el caso de *H. arenicolor* se mostró una $R^2 = 0.965$ y $R^2 = 0.935$
131 respectivamente, mientras que para el caso de *H. eximia* la relación fue de $R^2 = 0.977$ y $R^2 = 0.957$
132 en cuanto a temperatura y pérdida-ganancia de agua.

133 En la zona de estudio se registró una pérdida de agua de los modelos de 2% (0.21g)
134 en promedio para *S. multiplicata*, de 5% (0.52g) para *H. arenicolor* y de 20% (2.14g) para *D.*
135 *eximius* en promedio durante las época de secas, mientras que la pérdida de agua durante la
136 época más importante de actividad para estas especies (lluvias) fue menor al 1% (0.09g) en
137 promedio para *S. multiplicata*, lo mismo para *H. arenicolor* (0.76g) y de 1% (1.55g) en promedio
138 para *H. eximia*; resaltando que la especie que pierde más agua en ambos casos es *H. eximia*. Por
139 otro lado, en algunas localidades de la Sierra de Tepotzotlán donde estas especies eran
140 abundantes pero en los últimos once años no se han obtenido registros, se observaron pérdidas
141 de agua mayores en los modelos, donde nuevamente la que mayor pérdida de agua la presentó *H.*
142 *eximia*.

143 En lo que se refiere a las pruebas de desempeño, se confirmó que entre mayor es la
144 temperatura las especies resultan mayormente afectadas, sin embargo, la humedad resulta
145 importante como amortiguador en pruebas donde la temperatura es más alta. Las temperaturas
146 críticas para el caso de cada especie se muestran en la Tabla 1. El punto crítico de actividad
147 mostró de igual manera que la especie que resulta afectada en su recuperación es *H. eximia*
148 registrando un tiempo de recuperación 37 segundos, lo cual es mucho tiempo.

149 **Discusión:**

150 En el caso de anfibios terrestres nocturnos, la temperatura del ambiente y la humedad
151 determinan la temperatura corporal (Tb) y el estado de hidratación (HS por sus siglas en inglés)
152 y son las variables ambientales dominantes que afectan el desempeño (Bider y Morrison, 1981).
153 En este caso, la pérdida y ganancia de agua registradas por los modelos nulos nos indican que
154 ciertas especies, como el caso de *H. eximia*, resulta ser la más susceptible ante cambios en la
155 humedad y temperatura, de igual forma se pudo observar en los organismos adultos mediante las
156 pruebas de desempeño. Preest y Pough han mostrado en varios estudios que han realizado que la
157 (Tb) y la (HS) afectan el rendimiento del aparato locomotor en *Bufo americanus* (Preest y Pough
158 1989) y que estos factores, juntos o por separado, influyen en el rendimiento en anuros (Preest y
159 Pough, 2003).

160 En el caso de *H. arenicolor* se registró un mejor desempeño que *Hyla eximia* y esto puede
161 deberse a la amplia distribución que tiene y que le permite adaptarse mejor a los diferentes
162 ambientes, Preest y colaboradores (1992), realizaron un trabajo con esta especie debido a que
163 tanto el hábitat en el que se encuentra y los hábitos que adopta podían responder lo que sucede en
164 una exposición regular a condiciones térmicas e hídricas estresantes, como también en el caso

165 particular de este estudio, donde *H. arenicolor* se distribuye casi en la totalidad del territorio
166 mexicano.

167 **Agradecimientos:** El primer autor establece que este artículo es un requisito para obtener el
168 grado de Doctora en Ciencias Biológicas en el Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM y le
169 agradece al Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México y al
170 CONACYT por la beca escolar (CVU 294891). FRM agradece al Proyecto Macrosystems y
171 PAPIIT IN 210116.

172 **Literatura Citada:**

- 173 • Bider J.R. and K.A. Morrison. 1981. Changes in toad (*Bufo americanus*) responses to abiotic
174 actors at the northern limit of their distribution. *Am Midl Nat* 106:293–304.
- 175 • Blaustein, A. R. 1994. Chicken Little or Nero's fiddle? A perspective on declining Amphibian
176 populations. *Herpetologica* 50:85-97.
- 177 • Boutilier, R. G., Donohoe, P. H., Tattersall, G. J. y T. J. West. 1997. Hypometabolic
178 homeostasis in overwintering aquatic amphibians. *The Journal of Experimental Biology* 200:
179 387–400.
- 180 • Corn, P. S. 2005. Climate change and amphibians. *Animal Biodiversity and Conservation*
181 28.1 (2005):59-67.
- 182 • Dodd, C. K., Jr. 1993. "Costs of living in an unpredictable environment: The ecology of
183 striped newts *Notophthalmus perstriatus* during a prolonged drought." *Copeia*, 1993, 605-
184 614.
- 185 • Hawkins, B. A., Field, R., Cornell, H. V., Currie, D. J., Guégan, J. F., Kaufman, D. M., Kerr,
186 J. T., Mittelbach, G. G., Obberdorff, T., O'Brien, E. M., Porter, E. E. y J. R. G. Turner 2003.

- 187 Energy, water, and broad-scale geographic patterns of species richness. *Ecology*. 84:3105–
188 3117.
- 189 • Jędrzejewska, B., Brzeziński, M. y W. Jędrzejewski. 2003. Seasonal dynamics and breeding
190 of amphibians in pristine forests (Białowieża National Park, E Poland) in dry years. *Folia*
191 *Zoologica* 52 (1): 77–86.
- 192 • Jetz, W., Rahbek, C. y R. K Colwell. 2004 The coincidence of rarity and richness and the
193 potential signature of history in centres of endemism. *Ecology Letters*. 7:1180–1191.
- 194 • Kayes S.M., R. L. Cramp, N. J. Hudson y C. E. Franklin. 2009. Surviving the drought:
195 burrowing frogs save energy by increasing mitochondrial coupling. *Journal of Experimental*
196 *Biology*. 212:2248–2253.
- 197 • Navas, C. A., y C. Araujo. 2000. The use of agar models to study amphibian thermal ecology.
198 *Journal of Herpetology*. 34:330-334.
- 199 • Pounds, J. A., y Crump, M. L. 1989. "Temporal variation in the dispersion of a tropical
200 anuran." *Copeia*. 1989(1):209-211.
- 201 • Preest, M. R., Brust, D. G. y M. L. Wygoda. 1992. Cutaneous Water Loss and the Effects of
202 Temperature and Hydration State on Aerobic Metabolism of Canyon Treefrogs, *Hyla*
203 *arenicolor*. *Herpetologica*. 2(48):210-219.
- 204 • Preest M. R. y F. H. Pough. 1989. Interaction of temperatura and hydration on locomotion of
205 toads. *Functional Ecology*. 3:693–699.
- 206 • Preest M. R. y F. H. Pough. 2003. Effects of Body Temperature and Hydration State on
207 Organismal Performance of Toads, *Bufo americanus*. *Physiological and Biochemical*
208 *Zoology*. 2(76):229-239.

- 209 • Tracy, C. R., Betts, G., Tracy, C. R. y K. A. Christian. 2007. Reptiles Plaster Models to
210 Measure Operative Temperature and Evaporative Water Loss of Amphibians. *Journal of*
211 *Herpetology*. 4(41):597-603.
- 212 • Wells, K. D. 2007. *The Ecology and Behaviour of Amphibians*. University of Chicago Press,
213 Chicago.
- 214 • Wright D. H. 1983. Species-energy theory: an extension of species-area theory. *Oikos*. 41,
215 496–506.

216

217

218

219

220

221

222

223

224

225

226

227

228

229

230

231

232
233
234
235
236
237
238
239
240
241
242
243
244
245
246
247
248
249
250
251
252
253
254
255

Fig. 1 Comportamiento del modelo nulo y temperatura

Fig. 2 Comportamiento del modelo nulo y pérdida de agua

Fig. 3 Distancia recorrida en las pruebas de desempeño

Fig. 4 Punto Crítico de Actividad en las tres especies de anuros

256

257

258

259

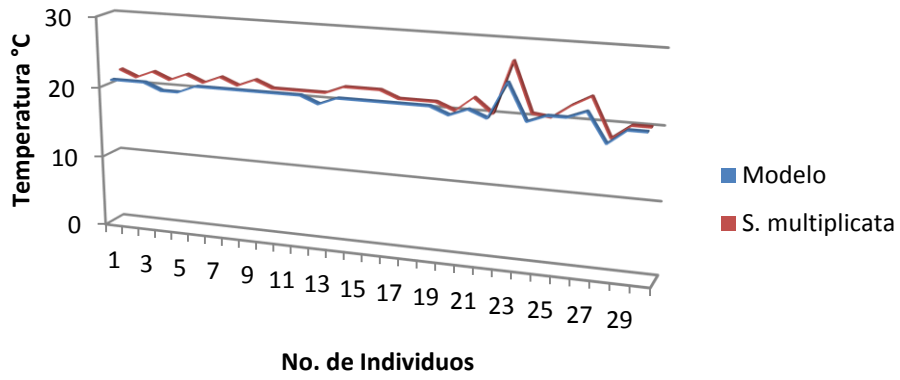
260

261

262

263

264



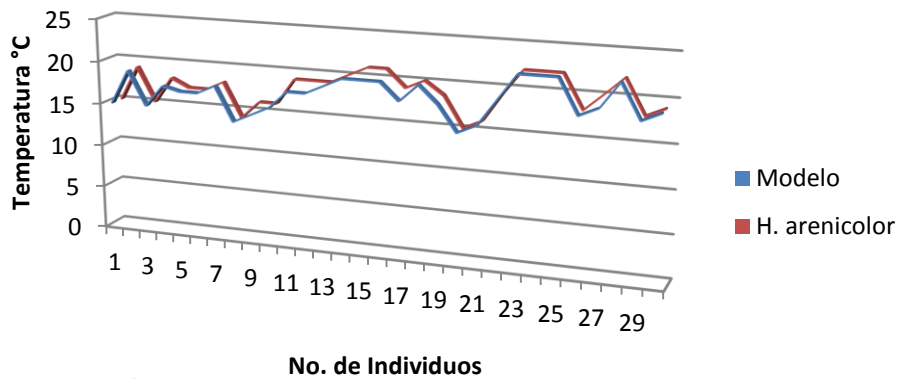
265

266

267

268

269



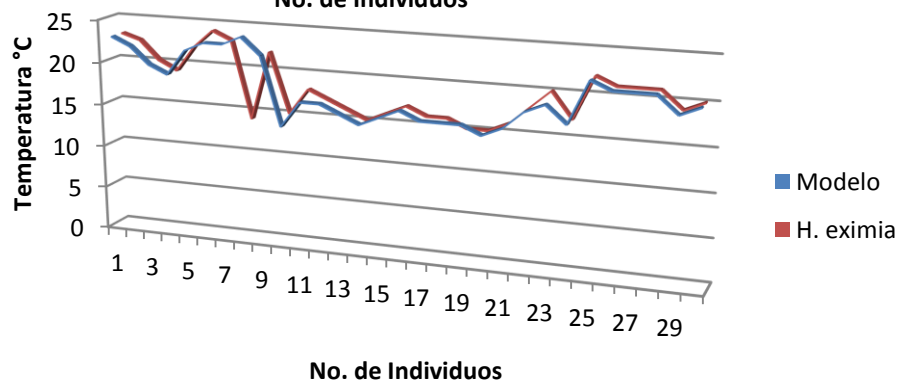
270

271

272

273

274



275

276 Fig.1

277

278

279

280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295
296
297
298
299
300
301
302
303

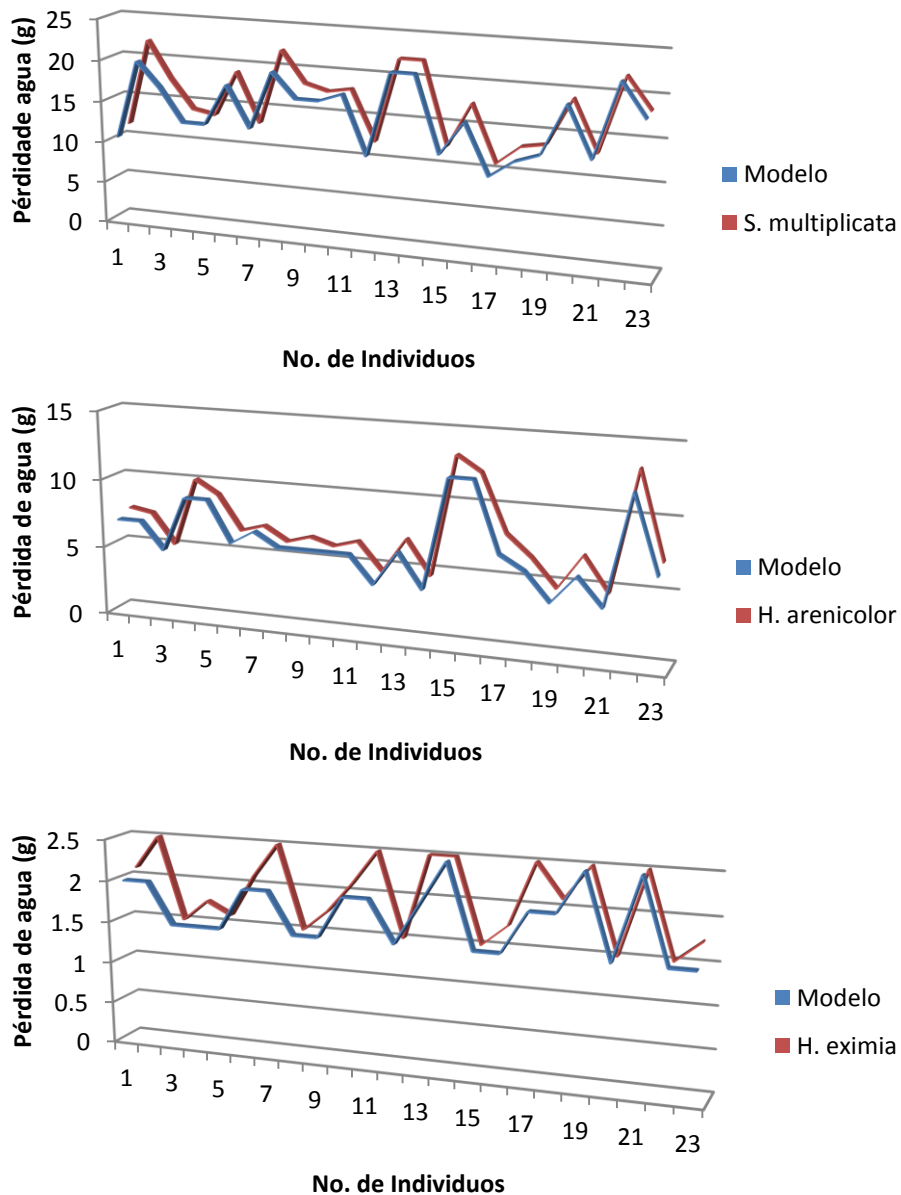


Fig.2

304

305

306

307

308

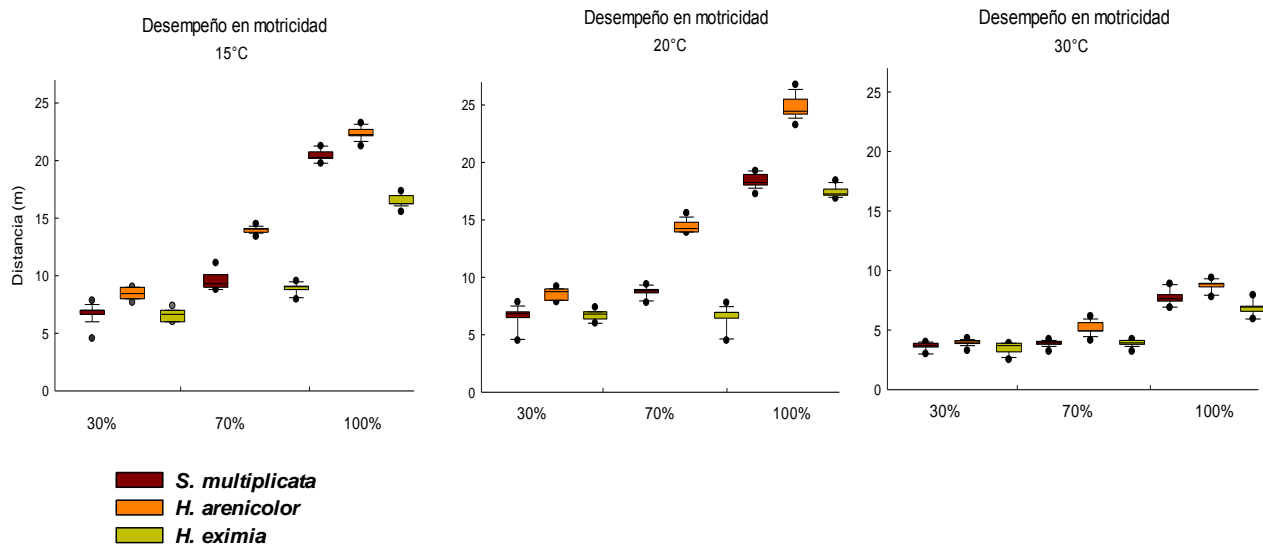
309

310

311

312

313



314 Fig.3

315

316

317

318

319

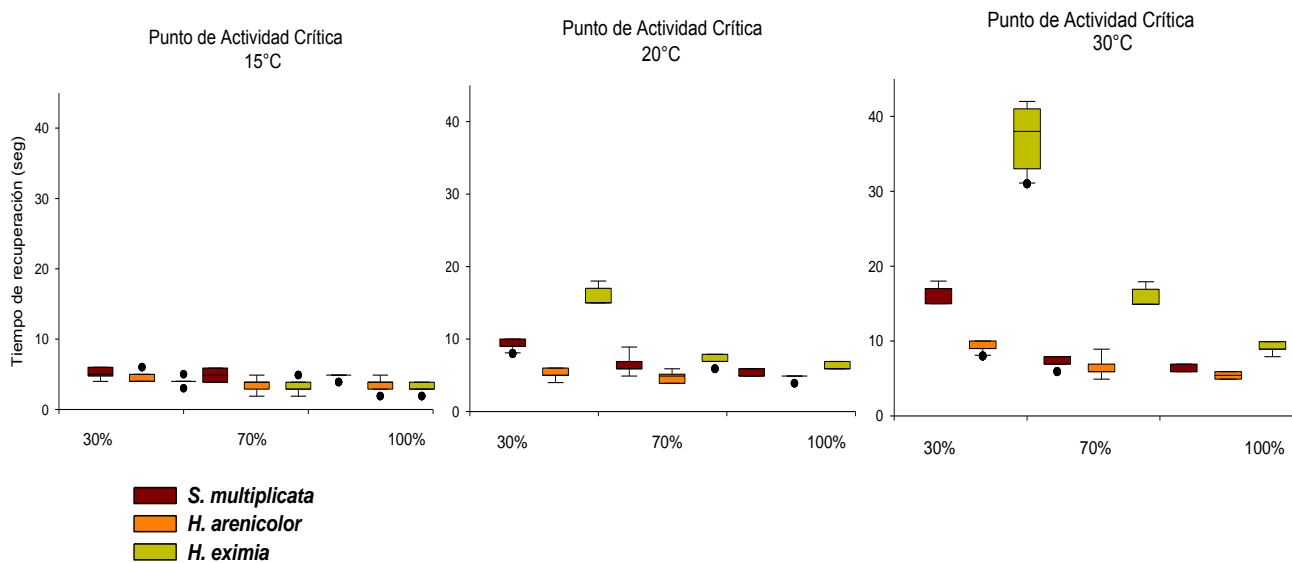
320

321

322

323

324



325 Fig.4

326

327

DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES.

El cambio en los factores abióticos ha venido actuando en diversos sentidos que al interactuar con otros aspectos anteriormente mencionados suele ser una amenaza implacable no solo para los anfibios, sino para todas las especies existentes en el planeta, solo que, en el caso de los anfibios ha sido más notorio dada la sensibilidad que estos organismos muestran particularmente en los ambientes que explotan. Se ha reportado que el cambio climático actúa en anfibios de zonas templadas básicamente afectando su fisiología durante y después de la hibernación causando mortalidad en hembras y decremento en la fecundidad de las sobrevivientes (Reading, 2007).

Los efectos del clima en la distribución e interacciones de diversas especies de ectotermos como los anfibios son influenciados fuertemente por condiciones ambientales como la temperatura y la humedad. Ejemplo de ello es en la ovogénesis y espermatogénesis de estos organismos, dado que son dependientes de regímenes estacionales de temperatura, la variación de ésta, altera nichos temporales e interacciones tróficas (Walther et. al. 2002). Los grandes cambios en el clima, con frecuencia incrementan la vulnerabilidad de las especies aumentando el riesgo de incendios, o bien, baja fertilidad de suelos, baja disponibilidad de agua, entre otras causas (Schröter et. al. 2005).

Ahora bien, en cuanto a las especies de anfibios que se están enfrentando a un creciente decline, las únicas opciones son las adaptaciones que ciertas especies ya han manifestado actualmente y la segunda opción sería una pronta acción salvaguardando sitios de reproducción y protección de zonas con características apropiadas para la migración y desarrollo larvario de estas especies, o incluso promoviendo la restauración de ecosistemas acuáticos y boscosos. No debe perderse de vista, aunque con ciertas reservas, la reproducción en cautiverio; dado que, si bien para algunas especies es muy difícil adaptarse al mantenimiento ex situ, la única vía para actuar prontamente es conociendo más acerca de la biología de estos organismos para un logro exitoso en cautiverio (Stuart et. al. 2004) y posteriormente tomar medidas de reintroducción o repoblación en lugares donde ya no es posible encontrarlos. Es difícil discernir hasta qué grado los anfibios pueden adaptarse, porque una vez alcanzados los límites no hay punto de retorno en el declive de las poblaciones.

A manera de conclusión se puede decir que, la evidencia de factores importantes que están actuando directamente en los anfibios y los están llevando a adaptaciones que no se habían conocido anteriormente o bien, a la extinción, sugiere el actuar rápido puesto que, dadas las escalas en las que actúan éstos, las diferencias funcionales que se dan entre larvas y adultos de muchos anfibios implican no solo la falta de una especie, sino la pérdida de dos (Whiles et. al. 2006).

Sin embargo, teniendo los ejemplos expuestos, aún existe debate en si los anfibios están mostrando adaptaciones en su morfología y fisiología o si están manifestando los límites de tolerancia ante los cambios ambientales dentro de su hábitat (Lips et. al. 2005).

Por otro lado, a pesar de que las extinciones han estado presentes a lo largo de la historia de nuestro planeta e inevitablemente los anfibios más susceptibles a estos cambios se han extinto o se extinguirán, probablemente para toda la diversidad de especies que resten se deberán plantear políticas de cambios entre lo que se conoce de dichas especies, es decir, compartiendo

información biológica en bases de datos, o bien, creando metodologías uniformes para cada aspecto de estudios de factores abióticos relacionados con el cambio climático, con la única finalidad de rescatar lo que todavía está, sin lugar a dudas respondiendo positivamente ante cambios tan grandes en períodos tan cortos de tiempo.

Resulta además de suma importancia el mantener medidas de control y mitigación en cuanto a la contaminación de sistemas acuáticos, así como políticas de manejo de especies de anfibios, con la finalidad de prevenir la expansión de enfermedades que lleven a un decremento de las poblaciones nativas (Lips et. al. 2005).

LITERATURA CITADA

- Lips, K. R., Burrowes, P. A., Mendelson III, J. R. y G. Parra-Olea. 2005. Amphibian declines in Latin America: widespread population declines, extinctions and impacts. *Biotropica* 37:163-165.
- Reading C. J. 2007. Linking global warming to amphibian declines through its effects on female body condition and survivorship. *Oecologia*. 151:125–131.
- Schröter, D., Cramer, W., Leemans, R., I. C. Prentice, Araújo, M. B., N. W. Arnell, et al. 2005. Ecosystem Service Supply and Vulnerability to Global Change in Europe. *Science* 310: 1333-1337.
- Stuart, S., Chanson, J., N. A. Cox, B. E. Young, A. S. L. Rodrigues, D. L. Fischman, R. W. Waller. 2004. Status and Trends of Amphibian Declines and Extinctions Worldwide. *Science*. 306: 1783-1786.
- Walther, G. R., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T. J. C., Fromentin, J. M., Hoegh-Guidberg, O., Bairlein, F. 2002. Ecological responses to recent climate change. *Nature*. 416: 389-395.
- Whiles, M. R., Lips, K. R., Pringle, C., Kilham, S. S., Brenes, R., Connelly, S., et al. 2006. The consequences of amphibian population declines to the structure and function of neotropical stream ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment* 4:27–34.