



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

ECOLOGÍA

PRESENCIA DE *Batrachochytrium dendrobatidis* EN ANFIBIOS DE LA

PENÍNSULA DE YUCATÁN, MÉXICO

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

ADUA SOFIA OLVERA AVILA

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: Dra. Gabriela Parra Olea

Instituto de Biología, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dra. Eria Alaide Rebollar Caudillo

Centro de Ciencias Genómicas, UNAM

Dr. José Rogelio Cedeño Vázquez

El Colegio de la Frontera Sur, ECOSUR

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.

SEPTIEMBRE 2023



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

ECOLOGÍA

PRESENCIA DE *Batrachochytrium dendrobatidis* EN ANFIBIOS DE LA

PENÍNSULA DE YUCATÁN, MÉXICO

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

ADUA SOFIA OLVERA AVILA

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: Dra. Gabriela Parra Olea

Instituto de Biología, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dra. Eria Alaide Rebollar Caudillo

Centro de Ciencias Genómicas, UNAM

Dr. José Rogelio Cedeño Vázquez

El Colegio de la Frontera Sur, ECOSUR

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.

SEPTIEMBRE 2023.



**COORDINACIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO
COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE BIOLOGÍA
OFICIO: CGEP/CPCB/IB/606/2023
ASUNTO: Oficio de Jurado**

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

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **8 de mayo de 2023** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **ECOLOGÍA** de la estudiante **OLVERA AVILA ADUA SOFIA** con número de cuenta **521014357** con la tesis titulada **"Presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* en anfibios de la Península de Yucatán, México"**, realizada bajo la dirección de la **DRA. GABRIELA PARRA OLEA**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DR. HIBRAIM ADÁN PÉREZ MENDOZA
Vocal: DR. OMAR HERNÁNDEZ ORDOÑEZ
Vocal: DRA. ROSARIO MATA LÓPEZ
Vocal: DR. JULIO ALBERTO LEMOS ESPINAL
Secretario: DRA. ERIA ALAIDE REBOLLAR CAUDILLO

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 09 de agosto de 2023

COORDINADOR DEL PROGRAMA

DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA

c. c. p. Expediente del alumno

AGNS/RGA/EARR/rga



Agradecimientos institucionales

Agradezco al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad y los recursos necesarios para cursar mis estudios de la Maestría en Ciencias Biológicas.

Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por la beca (CVU 1106308) otorgada durante los dos años correspondientes a los estudios de maestría.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) por el financiamiento del proyecto Sistemática y Conservación de Anfibios del Sureste de México (PAPIIT-IN205521).

A la Dra. Gabriela Parra Olea por ser mi tutora y brindarme apoyo y guía durante la realización de este proyecto.

A la Dra. Eria Rebollar Caudillo y al Dr. José Rogelio Cedeño Vázquez, por formar parte de mi comité tutorial y tomarse el tiempo de corregir y dirigir el rumbo de esta tesis, siempre con comentarios acertados y mucha atención al detalle de lo que escribía.

Agradecimientos personales

Para hacer posibles los proyectos de las biólogas, *it takes a village*. Así que aquí enumero mi gratitud hacia la mayoría de personas que contribuyeron para hacer posible este trabajo, y aun así me quedo corta.

Dra. Gabriela Parra Olea, por ser mi tutora en esta tesis, acompañarme a los muestreos en campo y enseñarme los procesos en el laboratorio, pero sobre todo por mostrarme que las situaciones más extrañas e inesperadas son excelentes momentos para ser valientes, creativas y mantenerse firmes con los objetivos claros. Además, por el esfuerzo para proveer financiamiento, acompañamiento, cursos de manejo, alojamiento, lecciones de cocina y todo lo demás. Gracias Gaby, por tu generosidad ubicua y luminosa.

Rosalía Avila Ortega e Israel Olvera Franco, por su predisposición a la aventura que siempre me impulsó cuando yo sentía que no podría. Pero sobre todo por su amor, que de tan intenso me alcanza para sentirme acompañada y apoyada a kilómetros de distancia. Mi gratitud y amor a ustedes son infinitos, intemporales e inconmensurables en este párrafo.

Elisa y Rebeca Moranchel Flores; por introducirme a la Ciudad de México, darme su amistad, confianza y un apoyo enorme, con los cuales muchos momentos y procesos difíciles se convirtieron en eventos de compañerismo y diversión.

A todas las personas que me ayudaron de forma increíble con el trabajo de campo:

Mijal Montelongo Huberman y Diana Fuentes de la Rosa, la travesía entre lo desconocido siempre es mejor cuando conoces personas inteligentes y sensibles, que te acompañan y te apoyan.

A las personas del equipo fantástico del Parra's Lab que no dudaron en brindarme su ayuda y hacer su magia en campo: Raquel Hernández Austria, Mirna Grisel García Castillo, Omar Hernández Ordoñez, Ángel Fernando Soto Pozos y Juan Daniel Aguilar Montés. Haciendo una mención especial a Carlos Omar Becerra Soria, al que le tocaron las situaciones más extremas y aun así aceptó volver a salir al campo conmigo y seguirse involucrando,

brindándome su amistad y todo su apoyo, además de nunca desistir de hacer aportaciones agudas y siempre oportunas a mis proyectos.

Gracias también a las personas que acudieron a buscar anfibios con nosotros, contribuyendo mediante sus excelentes habilidades a darme un enorme apoyo; María Teresa García Gallardo, Rafel Peralta Hernández, René Avalos Vela y Ángel Hernán Sánchez.

A Samuel Torres Castillo y Abidamet Torres Castillo, por su conocimiento integral de los espacios en la selva y su capacidad para mantener siempre el buen humor, lo cual los vuelve excelentes guías de campo.

A James Callaghan, que nos abrió las puertas de la Reserva Kaxil Kiuic para averiguar el estado de salud de sus poblaciones de anfibios.

Agradezco por su apoyo en mi aprendizaje y la realización de los experimentos en laboratorio a las siguientes personas:

Al apoyo de las responsables de los laboratorios de Biología Molecular del Instituto de Biología: la M. en C., Andrea Rubí Jiménez Marín, por proveer una excelente capacitación para la utilización de un laboratorio molecular y por prestarme sus pipetas. A la M. en C. Laura Margarita Márquez Valdelamar, por sus clases y asesorías, por compartir sus amplios conocimientos sobre biología molecular y porque cuando me vio muy perdida me avisó del curso de qPCR para que pudiera resolver mis dudas y mejorar mi técnica. A la M. en C. Nelly María López Ortiz, por su eficacia en el laboratorio, por sus clases y sus consejos, y por su excelente disposición para ayudar a los estudiantes en la realización de sus proyectos.

A Raquel Hernández Austria, por todo su apoyo, desde que nos conocimos hasta la fecha, por resolver siempre mis inquietudes sobre el funcionamiento del mundo del posgrado; y especialmente por su presencia de ánimo, inteligencia, paciencia y alegría a la hora de guiarme en mi primera inmersión en el mundo de lo molecular.

A Luisa Ribeiro por introducirme al misterio de la ejecución correcta y precisa de los PCR en tiempo real. Además, por quedarse conmigo a través de los procesos de fallos a prueba y error: siempre creyendo en mi capacidad para resolver las cosas e impulsándome a cada paso del camino, con una cualidad para la amistad y el periplo que recordaré siempre de forma entrañable.

A María Delia Basanta y Ángel Soto Pozos, por resolver todas mis dudas y darme asesorías e ideas para mejorar mis experimentos. Por enseñarme a ser precisa y compartirme su experiencia para hacer el proceso experimental más fluido y acertado.

A Mirna Grisel García Castillo y Juan Daniel Aguilar Montés porque cuando las cosas se pusieron feas, me ofrecieron su amistad, tiempo y apoyo, realizando PCRs conmigo y aligerando mediante su compañía la sensación de incertidumbre.

La dimensión del material que se necesita para realizar estos proyectos es colosal. Así que agradezco que mientras los proveedores volvían a tomar impulso después de la pandemia y ya estábamos a días de tener que comenzar el trabajo de campo, la M. en C. Andrea Rubí Jiménez Marín nos prestó viales y la Dr. Eria Rebollar Caudillo, el Dr. Hibrahim Adán Pérez Mendoza y la Dra. Leticia Margarita Ochoa Ochoa nos prestaron hisopos. A Juan Báez por su apoyo incondicional para traer siempre mi computadora de regreso del mundo de los muertos en tiempo récord.

A Nut Xanat Sánchez, Fernando Ruíz y Ricardo Luría, por involucrarse con mi confusión sobre los modelos generales lineales y ayudarme a concretar las pruebas estadísticas.

A Rocío González Acosta, por hacer que los trámites confusos fueran entendibles, y por crear sólidos puentes de comunicación con los estudiantes aún en las circunstancias extrañas de ingresar al posgrado en pandemia.

A los miembros del jurado que revisaron y comentaron mi tesis en la recta final; Dra. Eria Rebollar Caudillo, Dr. Omar Hernández Ordoñez, Dr. Hibrahim Adán Pérez Mendoza, Dr. Julio Alberto Lemos Espinal, Dra. Rosario Mata López.

A mis personas, amigos y amigas que siempre me dijeron que sí se podía, que ya casi se lograba: Xóchitl Arteaga, Nut Xanat Sánchez, Sharonit Santiago, Ricardo Luría, Axel Peña, Aleyda González. A las especies compañeras: Kahela que nos apoyó yendo al campo y a Ulysses y Chil-Aquilés que siempre esperaron ronroneando a que volviera del campo. A Mezcal, Mashita y Akira.

A mis abuelos y abuelas. A Paco y a toda Angora Sindical.

Finalmente, pero siempre y desde el principio, a la selva misma que nos permitió entrar a hacerle preguntas y nos dejó dormir entre sus ceibas.

Esta tesis está dedicada a Arturo Belano

Índice

Resumen.....	1
Abstract.....	2
Introducción.....	3
Objetivos.....	6
Antecedentes.....	7
Metodología.....	9
Resultados.....	14
Discusión.....	19
Conclusiones.....	25
Referencias bibliográficas.....	26

Resumen

Las enfermedades emergentes producto de agentes patógenos son una gran amenaza para la biodiversidad. Uno de estos agentes es el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) que ha causado la extinción y el declive de poblaciones de numerosas especies de anfibios. En México se tienen datos para la mayoría de los estados del país, sin embargo, estos son escasos para la Península de Yucatán. El objetivo del presente estudio fue evaluar la presencia de *Bd* en los anfibios de la Península de Yucatán, México, y analizar su relación con la identidad filogenética y modo reproductivo de los organismos hospederos, así como con el estado de conservación del ambiente y la estacionalidad (temporada de lluvias y secas). Se realizaron cuatro muestreos en diferentes puntos de la Península durante 2021 y 2022. Se tomaron hisopados cutáneos en los anfibios encontrados, y se detectó la presencia de *Bd* mediante la técnica de PCR en tiempo real. En total se analizaron 545 muestras, correspondientes a 19 de las 26 especies de anfibios presentes en la Península de Yucatán. Se detectó *Bd* en 19 individuos pertenecientes a 10 especies, obteniendo una prevalencia de *Bd* de 3.4%. El promedio de intensidad de infección fue de 2374.45 (\pm 1319.73 E. E.) en un intervalo de 0.26 a 25457.62 equivalentes genómicos (E. G.). No se encontraron diferencias estadísticas en la prevalencia del hongo entre familias, especies, modos reproductivos, estados de conservación de los sitios o la estacionalidad, pero sí hay diferencias en la intensidad de infección entre familias y especies. La mayor prevalencia se presentó en la familia Hylidae. En cuanto a modos reproductivos, *Bd* estuvo presente en las especies con modos reproductivos acuáticos y terrestres, siendo mayor en aquellas con modos reproductivos acuáticos. Se encontraron casos positivos en sitios conservados, de transición y perturbados, así como en la temporada de lluvias y la de secas.

Palabras clave: Quitridiomycosis, epizootias, anfibios, bosque tropical, Yucatán

Abstract

Infectious diseases caused by pathogens are a threat to biodiversity. One of these agents is the fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*), which has caused the extinction and population declines from numerous amphibian species. There is data for most of the states in Mexico, however, the studies are scarce for the Yucatan Peninsula. The objective of this study was to evaluate the presence of *Bd* in the amphibians of the Yucatan Peninsula in relation to the phylogenetic identity and reproductive mode of the hosts, as well as its relation to the conservation of the environment and seasonality (rainy and dry seasons). Four samplings were made in different locations of the Peninsula, during 2021 and 2022. Skin swabs were taken from the amphibians and later the presence of *Bd* was detected with real time PCR technique. A total of 545 samples were examined, those belonged to 19 out of 26 amphibian species recorded for the Yucatan Peninsula. *Bd* was detected in 19 individuals that belonged to 10 different species, accounting for a prevalence of 3.4%. The mean infection intensity was 2374.45 (\pm 1319.73 S. E.) ranging from 0.26 to 25457.62 genomic equivalents (G. E.). No statistical differences were found in prevalence among families, species, reproductive mode, conservation or seasonality, although there were differences in infection intensity between families and species. The highest prevalence happened in Hylidae. In regards to reproductive modes, *Bd* was present in species with aquatic and terrestrial reproductive modes, being more prevalent in those with aquatic reproduction. There were positive cases in natural, secondary and disturbed forests as well as in the rainy and dry season.

Key words: Chytridiomycosis, epizootics, amphibians, tropical forest, Yucatan.

Introducción

La quitridiomycosis es una enfermedad causada por los hongos *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) y *Batrachochytrium salamandrivorans* (*Bsal*) y afecta a numerosas especies de anfibios en el mundo (Scheele et al., 2019) en general provoca lesiones en las zonas queratinizadas de la piel y es altamente letal (Quintero-Díaz et al., 2013). Esta enfermedad ha afectado a los anfibios desde finales de 1980 y principios de 1990, principalmente en el Neotrópico, y se le ha asociado con declives poblacionales graves incluso en áreas protegidas, como por ejemplo en El Copé, Panamá (Lips et al., 2006) y en Monteverde, Costa Rica (Richards-Hrdlicka., 2013).

Desde su descubrimiento a la fecha se ha realizado un esfuerzo por aumentar el conocimiento acerca del estado de las poblaciones de anfibios en relación con esta infección, por lo que se han podido detectar factores ecológicos que afectan tanto la presencia como la prevalencia de *Bd* en anfibios (Lambertini et al., 2021; Mendoza-Almeralla et al., 2015; Zumbado-Ulate et al., 2019).

Dentro de esos factores ecológicos, la altitud es un factor importante y la tendencia observada es que las temperaturas más frías, en un intervalo óptimo que va de 17 a 23° C, en zonas tropicales por encima de los 1000 m s. n. m. son más favorables para el crecimiento del *Bd* (Lambertini et al., 2021; Voyles et al., 2017). Por ejemplo, en el Copé, Panamá al evaluar variables ambientales asociadas al hábitat se observó una prevalencia de infección más alta en los anfibios presentes en altitudes por arriba de los 500 m s. n. m. (Brem & Lips, 2008). Las poblaciones de anfibios presentes en elevaciones a partir de los 300-400 m s. n. m. son más susceptibles al hongo y este patrón se ha observado en Australia (Kriger y Hero, 2008; Sapsford et al., 2013), Estados Unidos (Vredenburg et al., 2010), Perú (Seimon et al., 2007), Chile (Alvarado-Rybak et al., 2021) España y Francia (Walker et al., 2010).

Entre los factores bióticos, el modo reproductivo en anfibios es importante en la infección por *Bd*. Para evaluarlo se clasifica a las especies en las que tienen modos reproductivos acuáticos (que presentan larvas acuáticas) y las terrestres (cuando presentan desarrollo directo). Las especies con larvas acuáticas que ocupan cuerpos de agua permanentes tienden a presentar mayor prevalencia del *Bd* ya que están en contacto constante con el agua y ahí se favorece el ciclo de vida del hongo (Lambertini et al., 2021). En un bosque mesófilo de Veracruz se observó este patrón, encontrando diferencias en la infección entre familias con modo reproductivo directo (Craugastoridae) y modo

reproductivo acuático (Hylidae), siendo más alta la carga de *Bd* en la segunda (Murrieta-Galindo et al., 2014). Sin embargo, en condiciones de laboratorio se ha observado que especies con desarrollo directo tuvieron una tasa de infección más alta que aquellas con larvas acuáticas (Mesquita et al., 2017), por lo que sigue siendo importante analizar la dinámica de *Bd* por modo reproductivo.

Las diferencias encontradas en la infección por *Bd* entre las diferentes familias de anfibios no sólo se atribuye al modo reproductivo si no a la interacción de factores (Lambertini et al., 2021). La presencia constante en cuerpos de agua, un gran tamaño corporal e intervalo de distribución altitudinal restringido son algunas de las variables que incrementan la propensión a la infección por *Bd* (Scheele et al., 2019). Históricamente las familias Bufonidae y Craugastoridae son las que han presentado los eventos más estudiados de extinción de especies por infección de *Bd* (Pounds et al., 2006; Scheele et al., 2019). Considerando la interacción de diversos factores ecológicos y filogenéticos, las familias Hylidae y Craugastoridae son donde se encuentra mayor prevalencia del hongo (Lambertini et al., 2021).

Los anfibios son sensibles a los cambios en el ambiente y en la estructura del paisaje. Se había reportado que en hábitats conservados las condiciones ambientales eran favorables para el *Bd*, lo cual incrementaba el riesgo de infección para los anfibios, encontrándose que hábitats perturbados presentaban baja prevalencia (Becker & Zamudio, 2011). Sin embargo, recientemente se ha observado una relación positiva entre el *Bd* y ambientes con alta perturbación antropogénica (Alvarado-Rybak et al., 2021), en donde, además, aumenta la probabilidad de ambientes adecuados para la proliferación del hongo con la cercanía a centros urbanos (Bacigalupe et al., 2019).

Aunque los anfibios presentes en los ecosistemas tropicales de tierras bajas en Centroamérica, en general presentan baja prevalencia e intensidad de infección, se han documentado declives en las poblaciones de algunas especies, los cuales pueden estar relacionados con el avance de la urbanización y las actividades agroforestales; entender la relación compleja entre la quitridiomycosis, el estado de conservación de los ecosistemas y las actividades humanas es un área que falta explorar más ampliamente en el Neotrópico (Rebollar et al., 2014).

Otra variable asociada con los cambios en la dinámica de infección del *Bd* es la estacionalidad (Alvarado-Rybak et al., 2021; Berger et al., 2004), particularmente en sitios donde ésta es marcada como en la Península de Yucatán (Lee, 1996). Sin embargo, la manera en que la estacionalidad afecta en la infección por quitridio no es del todo clara, se

ha encontrado el patrón donde existe más infección por *Bd* en temporada de sequía ya que los anfibios se agrupan en espacios húmedos o en huecos en el suelo y árboles, favoreciendo el contagio (Longo et al., 2010; Ruggeri et al., 2015) pero también se ha encontrado el patrón opuesto, en el que la precipitación parece propiciar la presencia de *Bd* en los anfibios ya que una mayor cantidad de humedad favorece el ciclo de vida del hongo (Alvarado-Rybak et al., 2021; James et al., 2015).

En México se tienen datos para aproximadamente 127 especies de anfibios (López-Velázquez, 2018) sobre todo de regiones montañosas; sin embargo, para las poblaciones del sur del país los estudios son escasos (Mendoza-Almeralla et al., 2015). Previamente, en Yucatán se ha detectado la presencia histórica de *Bd* en muestras de tres ejemplares de *Bolitoglossa yucatanana* recolectados en 1969, donde, además, en 2018 se registró un individuo de *Agalychnis taylori* infectado (Basanta et al., 2021).

La Península de Yucatán es una región geográfica que comprende la porción de Mesoamérica que divide el Golfo de México y el Mar Caribe, incluyendo México, Belice y Guatemala. En México está compuesta por los estados de Campeche, Yucatán y Quintana Roo. Es la región fisiográfica más joven en México (surge entre el Terciario y el Cuaternario), se caracteriza por sus suelos calcáreos, por ser predominantemente plana; con una elevación máxima de hasta 350 m s. n. m. y por contar con un sistema hídrico complejo que involucra la presencia de agua subterránea, pantanos y pocos ríos (González-Sánchez et al., 2017). Debido a su posición tropical y baja elevación, la temperatura en general es cálida y constante a lo largo del año (Lee, 1996). Contiene la mayor extensión de selva tropical en México; además de otros ecosistemas importantes y únicos, como los manglares y petenes. Sin embargo, también enfrenta severos problemas por la pérdida de cobertura vegetal principalmente asociados con la agricultura, la ganadería y el crecimiento de la mancha urbana (Varns et al., 2018).

En la península se encuentran registradas 26 especies de anfibios, de las cuales 23 son anuros y tres son caudados (González-Sánchez et al., 2017; Barão-Nóbrega et al., 2022).

Mediante análisis de modelado de nicho, Bolom-Huet et al. (2010) estimaron que *Bd* estaría presente en la Península de Yucatán, aunque en bajas cantidades, ya que no hay condiciones favorables para el patógeno en sus selvas. Además, se calcula que serán las regiones del norte y sudeste de la región las que sean más adecuadas para el desarrollo del hongo.

Considerando las características fisiográficas de la Península de Yucatán anteriormente mencionadas, la dinámica de infección y prevalencia del hongo *Bd* sería concordante con los patrones observados en sistemas tropicales ubicados a bajas altitudes (Lambertini et al., 2021; Zumbado-Ulate et al., 2019; Bolom-Huet et al., 2010), se esperaba que el hongo estuviera ampliamente distribuido y que la prevalencia y presencia de la infección fuera menor que en sistemas de alta montaña. Así mismo, las familias Bufonidae, Hylidae, Leptodactylidae y Ranidae son las que tendrían mayor probabilidad de infección debido a su identidad filogenética y modo reproductivo (Muñoz-Alonso, 2013), por lo que Plethodontidae y Microhylidae serían las familias donde se esperaría menor prevalencia de *Bd*. También se esperaría mayor prevalencia e intensidad de infección en ambientes perturbados, así como en la temporada de lluvias.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar la presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) en los anfibios de la Península de Yucatán, México, analizándolos con relación a las familias, modo reproductivo, conservación del hábitat y estacionalidad.

Objetivos particulares

1. Identificar la presencia de *Bd* en las especies de anfibios presentes en la Península de Yucatán, México.
2. Analizar la prevalencia y grado de infección por *Bd* y su relación con la identidad filogenética de las familias de anfibios.
3. Determinar si existe relación entre la prevalencia y grado de infección por *Bd* con respecto al modo reproductivo que presentan los anfibios.
4. Determinar la presencia y prevalencia de *Bd* en los anfibios y comprarlas entre especies presentes en zonas conservadas, perturbadas y de transición en el sur de la Península de Yucatán.
5. Analizar el efecto de la estacionalidad (secas y lluvias) en la prevalencia y grado de infección por *Bd* en las especies de anfibios presentes en el área de estudio.

Antecedentes

El hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) se describió por primera vez en 1999 (Longcore et al., 1999) al notar que anfibios en Australia y Centroamérica estaban muriendo y presentaban cambios epidérmicos causados por hongos quitridiomicetes (Berger et al., 1998). El hongo se describió como un parásito infeccioso de la piel de los anfibios y a partir de su descubrimiento se lo vinculó con declives poblacionales masivos en localidades conservadas de Panamá, como el Copé, Reserva Forestal de Fortuna, Las Tablas, entre otras (Berger et al., 1998; Lips et al., 2006).

Actualmente se sabe que, junto con *B. salamandrivorans*, este género de hongos es responsable de 501 declives poblacionales y 90 extinciones de anfibios (Scheele et al., 2019). Debido a su impacto, se ha promovido la realización de investigaciones tanto a nivel local como global que permitan entender la dinámica de infección del patógeno, especialmente en los países con alta diversidad de especies, como México. Resultado de esto, se ha encontrado evidencia de un proceso geográfico de dispersión del *Bd* del sur de México hacia Centroamérica (Cheng et al., 2011).

Decretar la protección de las áreas naturales mediante leyes parecía ser la respuesta para garantizar la preservación de la biodiversidad, sin embargo, epizootias como la producida por el *Bd* han vuelto más complejas las estrategias que se dan desde la biología de la conservación. Un ejemplo de esto, es la relación negativa encontrada entre la perturbación antropogénica del ambiente y la ocurrencia e intensidad de infección de *Bd* en Australia, Costa Rica y Brasil; lo cual sería un indicador de que los ambientes prístinos son lugares donde los anfibios experimentarán mayor infección del hongo y que los ambientes perturbados podrían funcionar como refugios (Becker y Zamudio, 2011), sin embargo, los autores son enfáticos en que esto sólo ocurrirá para aquellas especies de anfibios que puedan tolerar la deforestación. La pérdida de hábitat, en este sentido reduce la infección y prevalencia de *Bd* ya que también disminuye la riqueza de especies en las comunidades de anfibios.

Otro factor que vincula a la infección por *Bd* con los ambientes no perturbados, es que son sitios con las condiciones óptimas para el desarrollo tanto de los anfibios como del ciclo de vida del hongo (Becker y Zamudio, 2011). Esto se observó para México al analizar datos de 126 especies de anfibios e incluir diversas variables ecológicas, donde se encontró que las especies presentes en sitios con baja perturbación de hábitat tienen una alta

susceptibilidad al *Bd*, ya que esos lugares tienen un índice alto de idoneidad ambiental para el desarrollo del hongo (Hernández-López et al., 2018).

Analizar la relación entre la perturbación antropogénica y la infección por *Bd* sigue siendo un área en desarrollo. Estudios publicados recientemente, demuestran con datos colectados en Chile a lo largo de diez años que existe una asociación altamente positiva entre ecosistemas perturbados antropogénicamente y la presencia del quitridio. En este análisis también se encontró una relación positiva entre la precipitación y la susceptibilidad al *Bd* (Alvarado-Rybak, et al., 2021). También en Chile, al analizar datos y modelados en las ecorregiones con mayor biodiversidad del país, se demostró que el ambiente era más favorable para el *Bd* con el aumento de la actividad humana y conforme se acortaba la distancia a los centros urbanos (Bacigalupe et al., 2019).

Considerando que las áreas naturales protegidas son espacios donde se busca evitar la perturbación de los ecosistemas, es importante mencionar que en México se han realizado estudios en ANPs como el Parque Nacional La Malinche, y no se encontró variación en la distribución del quitridio a lo largo de las estaciones del año ni que tuviera relación con factores medioambientales (López-Velázquez, 2014). Por el contrario, en la Reserva de la Biosfera Mariposa Monarca, en Michoacán, se encontró una relación negativa entre la prevalencia del *Bd* y la temperatura y la precipitación, mientras que la carga de *Bd* tenía una relación positiva con la temperatura y la precipitación, además de que tanto en temporada de lluvias como en temporada de secas se encontraron anfibios infectados (Nava-González et al., 2019)

Estudios de comunidades de anfibios en México han detectado a *Bd*, mediante histología y biología molecular, en casi toda las regiones y estados de la República Mexicana. Uno de los primeros reportes publicados es de Lips et al. (2004), donde analizan los declives poblacionales en Guerrero y Oaxaca, encontrando dos anfibios muertos (*Craugastor saltator* y *Quilticohyla erythromma*) que presentaban *Bd*, sin embargo, no reportan análisis de detección de quitridio para algún otro de los anfibios encontrados. Hale et al. (2005) detectaron al patógeno en Arizona y Sonora mediante histología en ejemplares de colecciones del género *Lithobates*, recolectados en 1981.

Sucesivamente, se reportó la presencia del hongo mediante histología y PCR en 14 especies, distribuidas en Ciudad de México, Estado de México, Guerrero, Michoacán, Morelos, Oaxaca y Puebla (Frías-Alvarez et al., 2008).

Mediante técnicas de PCR se detectó *Bd* en Oaxaca y Chiapas (Cabrera-Hernández, 2012; Muñoz-Alonso, 2013), Veracruz (Murrieta-Galindo et al., 2014), región de

la Cuenca Nazas Aguanaval, que abarca los estados de Durango, Zacatecas y Coahuila (Hernández-Martínez et al., 2019), Michoacán (Nava-González et al., 2020) Ciudad de México, Estado de México, Puebla, Morelos, Veracruz y Tabasco (García-Feria et al., 2019). La mayoría de estos estudios se realizaron en localidades que se encuentran por arriba de los 300 m s. n. m..

Se han llevado a cabo análisis en tierras bajas, por ejemplo, en Baja California, donde Luja et al. (2012), encuentran una prevalencia de *Bd* de 46% en poblaciones relictuales de *Pseudacris regilla* en el desierto.

Entre los trabajos donde se han obtenido datos para las especies en el sureste del país, se encuentra el de García-Feria et al. (2019), donde reportan la presencia de *Bd* en dos individuos de *Leptodactylus fragilis* y cinco de *Smilisca baudinii*, presentes en la selva alta perennifolia de Tabasco.

En la Península de Yucatán no se han realizado estudios extensos sobre la presencia de quitridio. El único registro para la península se encuentra en Basanta et al., (2021), donde realizaron un análisis que tuvo como objetivo entender los patrones históricos y contemporáneos sobre la presencia y prevalencia del *Bd* en México; ahí reportan *Bd* en tres ejemplares de *Bolitoglossa yucatanana* recolectadas en 1969, y en un individuo de *Agalychnis taylori* del 2018.

Metodología

Trabajo de campo

En 2021 y 2022 se realizaron cuatro campañas de muestreo en la Península de Yucatán, México (Fig. 1). Los sitios de muestreo de 2021 corresponden a Mahahual, Calakmul, Reserva Kaxil Kiuic, Grutas de Calcehtok y Playa del Carmen. Las primeras recolectas se realizaron el 26 y 27 de febrero y del 1 al 5 de marzo en Mahahual y Playa del Carmen. La primera campaña de muestreo se llevó a cabo en la temporada de secas del 26 de abril al 12 de junio. La segunda campaña de muestreo se realizó durante la temporada de lluvias del 28 de agosto al 5 de noviembre. En 2022 se visitaron de nuevo las localidades de Calakmul y Quintana Roo, con un muestreo de dos semanas durante la temporada de secas del 11 al 21 de abril.

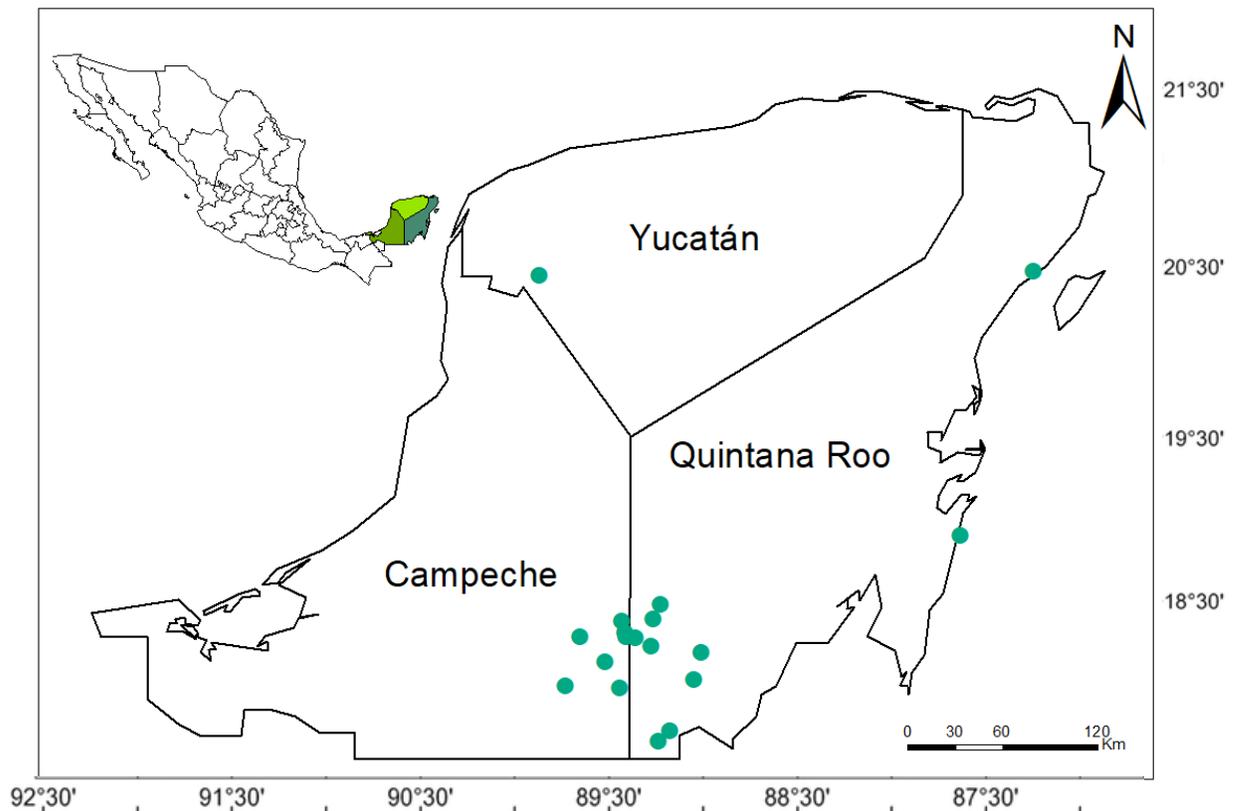


Figura 1. Mapa de la Península de Yucatán, México. Cada localidad de muestreo se señala con un círculo verde

Para los análisis de estado de conservación se consideraron las localidades de Calakmul y Quintana Roo. Los sitios se clasificaron en tres categorías: perturbado, transición y conservado (Cuadro 1). Los conservados mantienen vegetación de selva primaria (Bolom-Huet et al., 2019), ubicados en la UMA de Nuevo Becal-Zopilote Rey y la UMA Caobas, así como en el Ejido Conhuas y en la Reserva de la Biosfera Calakmul; los de transición son aquellos que presentan vegetación secundaria (acahuales) e inducida (Bolom-Huet et al., 2019; Hernández-Betancourt et al., 2012), se ubican en Nuevo Becal, Km 120, 20 de Noviembre, Centauro del Norte y Crecencio Rejón; y los perturbados presentan un uso antropogénico asociado (ej. aprovechamiento forestal intensivo, agricultura y construcciones humanas) (Alvarado-Rybak et al., 2021; Capucchio et al., 2019), están aledaños lagunas pantanosas del ejido Caobas, El Porvenir, los ejidos de Santa Rosa, Gómez Farías, Cristóbal Colón y la zona urbana de Xpujil.

Cuadro 1. Sitios de muestreo y su estado de conservación en el sur de la Península de Yucatán, México.

Conservados	Transición	Perturbados
UMA Nuevo Becal-Zopilote Rey	Ejido Nuevo Becal	Ejido Caobas
UMA Caobas	Km 120	El Porvenir
Ejido Conhuas	20 de Noviembre	Santa Rosa
Reserva de la Biosfera Calakmul	Centauro del Norte	Valentín Gómez Farías
	Crecencio Rejón	Cristóbal Colón
		Xpujil

Se realizaron muestreos nocturnos de 19:00 a 1:00 hrs, con cinco personas para la búsqueda activa de las especies potencialmente presentes en cada localidad. Considerando los hábitos de vida de los anfibios, la búsqueda se realizó en hojas, ramas, troncos, huecos de troncos, hojarasca, bajo rocas, bajo troncos, en la tierra húmeda en las orillas de los cuerpos de agua y en la vegetación presente dentro de los cuerpos de agua. Una vez que un anfibio era encontrado visualmente, se realizaron capturas manuales utilizando una bolsa de plástico nueva por cada individuo para evitar la contaminación de muestras.

Posteriormente se les realizó un hisopado cutáneo en campo, que consistía en enjuagarlos con 50 ml de agua destilada y después pasar un hisopo MV113 con punta de rayón, en las extremidades, dígitos y regiones inguinal, ventral y dorsal. Para manipular a cada ejemplar se utilizó un par nuevo de guantes de nitrilo, diferente para cada individuo con el objetivo de evitar riesgos de contaminación (Vredenburg, 2020). Al final de la realización del hisopado, cada individuo fue liberado en el mismo sitio donde fue encontrado. Los hisopos se guardaron en viales con etanol al 70% para preservar las muestras y trasladarlas al laboratorio (Kaiser y Pollinger, 2012).

Análisis de muestras en laboratorio

Se evaporó el etanol de las muestras mediante ciclos en vacuofuga hasta que no quedaron residuos en los hisopos. Posteriormente se extrajo el DNA utilizando 50 μ L de Prepman ULTRA (Life Technologies) por cada muestra (Boyle et al., 2004; Lambertini et al., 2021). La detección y cuantificación molecular se realizó mediante el protocolo Taqman de PCR en tiempo real, en equipo StepOne Applied Biosystems (Boyle et al., 2004). Para la obtención de la curva se utilizaron cuatro estándares de DNA de GBlocks (1, 100, 1000 y 10000 equivalentes genómicos). Se utilizó control negativo por duplicado y un control positivo, este último correspondiente a una muestra de cultivo de *Bd* de una cepa mexicana (Basanta et al., 2021). Las muestras y estándares se corrieron por duplicado y se consideraron positivas aquellas que amplificaron en ambas muestras. Se realizó un PCR extra para aquellas muestras que sólo amplificaron en una ocasión, para descartar o confirmar si eran positivas.

A partir de la utilización de estándares se obtuvieron los equivalentes genómicos de los casos positivos, y con estos se calculó la intensidad de infección (Rebollar et al., 2014), tanto de las especies como de las familias.

Análisis estadístico

La prevalencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* en las especies de anfibios se calculó de forma global para la Península de Yucatán como el número de casos positivos entre el total de individuos analizados y multiplicado por 100 (Rebollar et al., 2014; Zumbado-Ulate et al., 2019). También se agrupó la prevalencia por familias y por especies para poder realizar análisis de datos.

La intensidad de infección por familia se muestra como el promedio de los resultados, junto con el error estándar en aquellas familias donde hubo más de dos casos positivos.

Para los análisis estadísticos se utilizaron Modelos Generales Lineales (GLM, por sus siglas en inglés) y se analizaron por separado la prevalencia y la intensidad de infección. Con el objetivo de conocer la distribución de los datos de cada variable, se realizó un histograma y se calculó la varianza y la media, a partir de esta información se estimó que

la prevalencia tiene una distribución binomial, mientras que la intensidad de infección presenta una distribución gamma.

En el caso de la prevalencia, además se decidió utilizar una distribución binomial porque se consideraron tanto los casos negativos como los positivos, expresados como 0 y 1 respectivamente. Sólo se utilizaron para el análisis las especies que tuvieran más de un caso positivo, las cuales fueron *Tlalocohyla loquax*, *Leptodactylus fragilis*, *Leptodactylus melanonotus*, *Smilisca baudinii* y *Trachycephalus vermiculatus*. Con los resultados del GLM, se realizó una prueba de Chi-cuadrada, con el objetivo de buscar diferencias significativas.

Para la intensidad de infección se tomaron en cuenta todos los datos de las muestras positivas y con los resultados del GLM se realizó un análisis de varianza.

Tanto la prevalencia como la intensidad de infección se compararon en relación con las familias taxonómicas, el estado de conservación del hábitat (conservado, perturbado, transición) y la temporada climática (secas y lluvias).

El modo reproductivo se evaluó en el caso de la prevalencia sólo por acuático y acuático por nido de espuma. Aunque en ambos modos reproductivos se ocupan los cuerpos de agua para el desarrollo de los renacuajos, se consideraron por separado a los nidos de espuma, ya que son una estrategia reproductiva particular, presente en la familia Leptodactylidae, y se ha sugerido que pueden proveer a las larvas de protección contra desecación, depredadores e incluso enfermedades bacterianas y fúngicas (Fleming et al., 2009; Rodrigues et al., 2020).

La intensidad de infección se analizó en los tres modos reproductivos presentes: acuático, acuático por nidos de espuma y terrestre.

Todos los análisis se llevaron a cabo en el programa R versión 2022.12.0. y se consideró un valor de significancia menor a 0.05.

Resultados

Se analizaron 545 muestras, correspondientes a 19 de las 26 especies de anfibios presentes en la Península de Yucatán, México (González-Sánchez et al., 2017). Se detectó *Bd* en 10 de las 19 especies, con 19 muestras positivas (Cuadro 2) teniendo por lo tanto una prevalencia de *Bd* del 3.4%. El promedio de intensidad de infección fue de 2374.45 (\pm 1319.73 E. E.) con un intervalo de 0.26 a 25457.62 E. G. (equivalentes genómicos), el valor más bajo se presentó en un individuo de *Lithobates vaillanti* y el más alto en un individuo de *L. brownorum*.

Cuadro 2. Lista de especies analizadas. Se ordenan de mayor a menor cantidad de casos positivos.

Familia	Especie	Negativos	Positivos	Totales
Hylidae	<i>Tlalocohyla loquax</i>	23	4	27
Hylidae	<i>Smilisca baudinii</i>	57	3	60
Hylidae	<i>Trachycephalus vermiculatus</i>	23	3	26
Leptodactylidae	<i>Leptodactylus melanonotus</i>	58	2	60
Leptodactylidae	<i>Leptodactylus fragilis</i>	18	2	20
Hylidae	<i>Dendropsopus microcephalus</i>	57	1	58
Bufonidae	<i>Incillius valliceps</i>	58	1	59
Craugastoridae	<i>Craugastor yucatanensis</i>	19	1	20
Ranidae	<i>Lithobates brownorum</i>	27	1	28
Ranidae	<i>Lithobates vaillanti</i>	10	1	11
Bufonidae	<i>Rhinella horribilis</i>	19	0	19
Hylidae	<i>Dendropsophus ebraccatus</i>	20	0	20
Hylidae	<i>Scinax staufferi</i>	20	0	20
Hylidae	<i>Tripurion petasatus</i>	35	0	35
Microhylidae	<i>Gastrophryne elegans</i>	2	0	2
Microhylidae	<i>Hypopachus variolosus</i>	44	0	44
Hylidae	<i>Agalychnis taylori</i>	20	0	20
Rhinophrynidae	<i>Rhinophrynus dorsalis</i>	6	0	6
Plethodontidae	<i>Bolitoglossa yucatanana</i>	10	0	10
	Totales	526	19	545

Se detectó *Bd* en cinco de las ocho familias de anfibios presentes en el área de estudio (Cuadro 3), siendo mayor la prevalencia en Hylidae y Leptodactylidae. Las familias que no presentaron *Bd* fueron Plethodontidae, Microhylidae y Rhinophrynidae. La familia con mayor intensidad de infección fue Ranidae. Tanto en el modo reproductivo terrestre como en el acuático se presentaron muestras positivas.

Cuadro 3. Prevalencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* (positivos/totales) en las familias de anfibios de la Península de Yucatán, México. La intensidad de infección se muestra como promedio (se incluye el error estándar en las familias donde hubo más de dos casos positivos).

Familia	Número de individuos	Modo reproductivo	Prevalencia de <i>Bd</i>	Intensidad de infección
Bufonidae	78	Acuático	1/78 (1.2%)	35.63
Craugastoridae	20	Terrestre	1/20 (5%)	1292.93
Hylidae	266	Acuático	11/266 (4.1%)	1228.66 ± 476.43
Leptodactylidae	80	Acuático (nidos de espuma)	4/80 (5%)	1203.23 ± 1372.86
Microhylidae	46	Acuático	0/46	0
Plethodontidae	10	Terrestre	0/10	0
Ranidae	39	Acuático	2/39 (5.1%)	12728.94
Rhinophrynidae	6	Acuático	0/6	0

De los casos positivos, 11 corresponden a la temporada de lluvias y siete a la de secas; además, cinco organismos se encontraron en sitios conservados, nueve en sitios perturbados y cuatro en sitios de transición (Cuadro 4).

Cuadro 4. Lista de los casos positivos de *Bd* en las especies de anfibios del sur de la Península de Yucatán. Se muestra la intensidad de infección, el estado de conservación de los sitios en que se encontraron y la temporada climática (lluvias, secas) en la que se tomó la muestra.

Especie	Intensidad de infección (E.G.)	Estado de conservación de los sitios	Temporada climática
<i>Leptodactylus melanonotus</i>	6.06	Conservado	Lluvias
<i>Smilisca baudinii</i>	4807.39	Conservado	Lluvias
<i>Tlalocohyla loquax</i>	1765.78	Conservado	Lluvias
<i>Tlalocohyla loquax</i>	124.30	Conservado	Secas
<i>Leptodactylus fragilis</i>	24.91	Conservado	Secas
<i>Incilius valliceps</i>	35.63	Perturbado	Lluvias
<i>Tlalocohyla loquax</i>	664.33	Perturbado	Lluvias
<i>Trachycephalus vermiculatus</i>	37.19	Perturbado	Lluvias
<i>Trachycephalus vermiculatus</i>	81.24	Perturbado	Lluvias
<i>Leptodactylus fragilis</i>	2316.60	Perturbado	Lluvias
<i>Dendropsophus microcephalus</i>	619.77	Perturbado	Lluvias

<i>Lithobates brownorum</i>	25457.62	Perturbado	Secas
<i>Leptodactylus melanonotus</i>	2465.37	Perturbado	Secas
<i>Lithobates vaillanti</i>	0.26	Perturbado	Secas
<i>Smilisca baudinii</i>	3523.35	Transición	Lluvias
<i>Tlalocohyla loquax</i>	559.17	Transición	Lluvias
<i>Trachycephalus vermiculatus</i>	2.61	Transición	Secas
<i>Smilisca baudinii</i>	1330.10	Transición	Secas

La prevalencia no fue diferente entre las especies ($X^2=4.80$, $df=4$, $p=0.3074$), las familias ($X^2=1.07$, $df=4$, $p=0.2999$), los modos reproductivos ($X^2=1.07$, $df=4$, $p=0.2999$), el estado de conservación de los sitios ($X^2=0.00004$, $df=2$, $p=1.000$) o la temporada climática ($X^2=0.045$, $df=1$, $p=0.8315$).

Los valores obtenidos del análisis de Chi-cuadrada entre familias y modos reproductivos son idénticos porque las cinco especies involucradas en el análisis son de las familias Hylidae y Leptodactylidae, con modo reproductivo acuático y acuático con nidos de espuma respectivamente, por lo que no había diferencias en las categorías de ambas variables.

La intensidad de infección fue diferente entre especies ($F_{(8,9)}=5.04$, $p=0.013$) y entre familias ($F_{(4,13)}=3.1514$, $p=0.05$) pero no entre modos reproductivos ($F_{(2,15)}=0.02$, $p=0.975$).

Tampoco fue diferente entre los estados de conservación de los sitios ($F_{(2,14)}=0.3423$, $p=0.7159$) aunque en promedio los sitios perturbados presentan mayor intensidad de infección (Fig. 2).

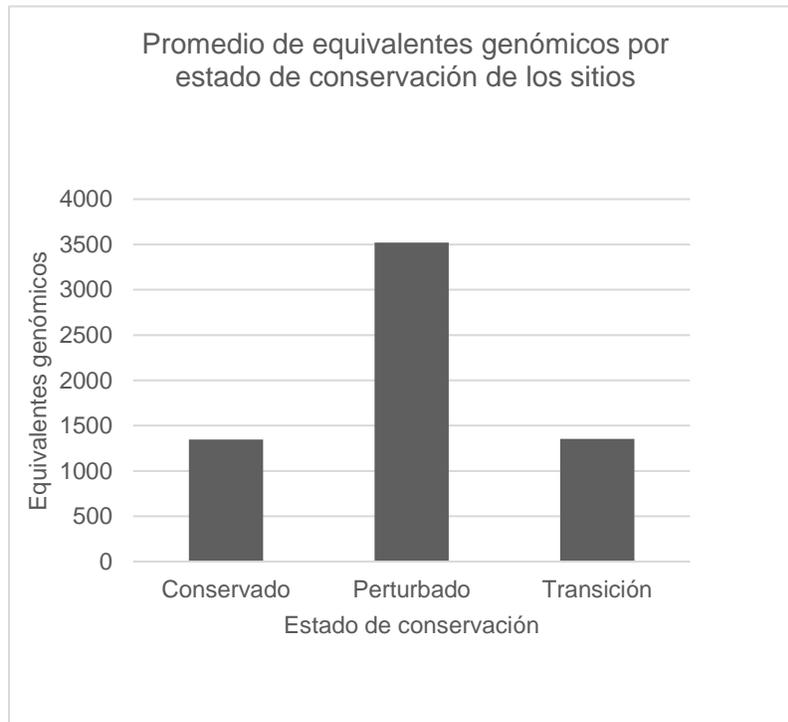


Figura 2. Intensidad de infección (promedio de equivalentes genómicos) en sitios conservados, perturbados y en transición.

No hubo diferencia en intensidad de infección entre las temporadas climáticas ($F_{(1,15)}=0.92$, $p=0.35$); en promedio la intensidad de infección es más alta en la temporada de secas en *Lithobates brownorum* y *Leptodactylus melanonotus*, mientras que en *Dendropsophus microcephalus*, *Leptodactylus fragilis*, *Smilisca baudinii* *Tlalocohyla loquax* y *Trachycephalus vermiculatus* el promedio de intensidad de infección fue más alto en lluvias (Fig. 3).

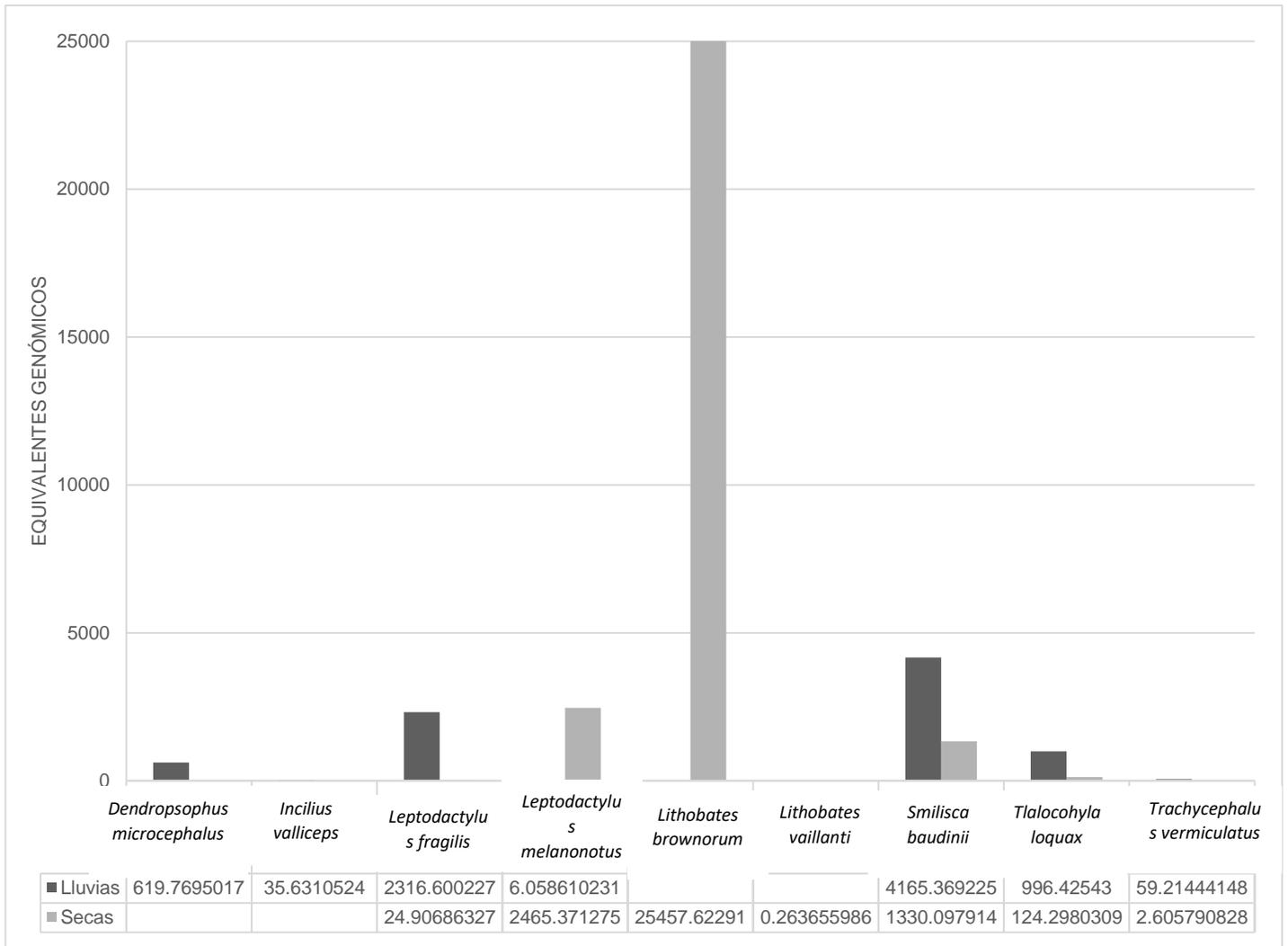


Figura 3. Intensidad de infección (promedio de equivalentes genómicos) en temporada de lluvias y secas.

Discusión

La prevalencia de *Bd* en los anfibios de la Península de Yucatán, México, es considerablemente baja (3.4%) en comparación con otros sistemas tropicales (Lambertini et al., 2021). También es baja en comparación con los estudios previos realizados en México. Por ejemplo, Nava-González et al. (2020) reportaron una prevalencia de 42% en la comunidad de anfibios de la Reserva de la Biosfera Mariposa Monarca en Michoacán. García-Feria et al. (2019) encontraron una prevalencia global de 47.78% en 13 especies distribuidas en Ciudad de México, Estado de México, Puebla, Morelos, Veracruz y Tabasco. Una de las prevalencias más altas (96.4%) fue reportada por Frías-Alvarez et al. (2008) para 14 especies de anfibios en siete estados de la República.

Las prevalencias más bajas reportadas en estudios previos son del 30% (Hernández-Martínez et al., 2019), 21% (Muñoz-Alonso, 2013) y 20% (Murrieta-Galindo et al., 2014). En un estudio realizado en Oaxaca y Chiapas (Cabrera-Hernández, 2012) se encontró una prevalencia muy baja, (7.6%), sin embargo, no es claro si se debe al reducido tamaño de muestra, ya que para algunas especies del estudio sólo se encontró un ejemplar.

México es un país con una alta prevalencia de *Bd* a nivel mundial (46.19%) (Li et al., 2021), sin embargo, a la fecha los estudios en el sur de México son muy escasos. La porción mexicana de la Península de Yucatán comparte características biogeográficas y de biodiversidad con Belice y Guatemala (Vázquez-Domínguez & Arita, 2010; Villaseñor et al., 2002), por lo que es posible que también las características de la presencia del *Bd* sean más parecidas a las de países de Centroamérica que a las del resto de la República Mexicana, por ejemplo, Belice que tiene una prevalencia del 5.72% (Li et al., 2021). Aunque en este proyecto la prevalencia global encontrada fue baja, el quitridio estuvo presente en la mitad de las especies analizadas (10/19), lo cual es similar a lo encontrado en las Montañas Mayas de Belice (Kaiser y Pollinger, 2012), en donde más de la mitad de las especies analizadas tuvieron *Bd*, además de que este patógeno estuvo presente en todos los sitios, indicando que el hongo está ampliamente distribuido en la región, aunque la prevalencia también en este caso fue baja (16%).

Otra variable a considerar es la altitud ya que existe una relación positiva entre la prevalencia del *Bd* y la elevación altitudinal (Li et al., 2021; Mendoza-Almeralla et al., 2015). Los estudios previos en México se realizaron principalmente en localidades con elevaciones mayores a las que se presentan en la Península de Yucatán (350 m s. n. m.) siendo los sitios tropicales a bajas altitudes donde se encuentra una baja prevalencia. Por ejemplo, en el Área de Conservación Guanacaste, Costa Rica, la prevalencia máxima fue de 9%, y en

una de sus localidades (Península de Santa Elena) de 310 ranas analizadas, sólo una muestra fue positiva (Zumbado-Ulate et al., 2014). Los sitios de muestreo cuentan con una altitud máxima de 700 m s. n. m. y su vegetación corresponde a bosque tropical seco.

El clima es otra variable que es distinta entre los trabajos previos realizados en México y las localidades muestreadas en la Península de Yucatán, donde el clima es cálido subhúmedo, con una temperatura promedio de 22-26 °C, máxima de 36 °C y precipitación promedio anual de 1100 mm (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, INEGI, 2022). Estas características son muy similares a las de las localidades en Costa Rica, donde la temperatura promedio es de 25 °C con una precipitación promedio anual de 1500 mm (Zumbado-Ulate et al., 2014).

Uno de los aspectos a tener en cuenta es que se ha observado que hay momentos y regiones geográficas en las que no hay diferencia en la prevalencia y la intensidad de infección en los anfibios presentes en bajas altitudes o en alta montaña; sin embargo, al analizar más finamente la dinámica temporal del quitridio, se observa que en alta montaña el *Bd* persiste más tiempo durante el verano (Kriger y Hero, 2008), reiterando las evidencias de que los anfibios en altitudes bajas tienen la capacidad de enfrentar al hongo sin experimentar grandes episodios de infección, y esta susceptibilidad reducida puede explicarse por diversos factores (microbioma, ambiente, historia de vida) que aún quedan por ser explorados (Rebollar et al., 2014).

En Panamá también se ha puesto a prueba si a bajas altitudes los valores de prevalencia e intensidad de infección son más bajos, encontrando que, aunque el quitridio estuvo presente en todos los sitios independientemente de la altitud, la prevalencia en general fue baja (intervalo: 15-34%) y hubo diferencias entre especies y sitios (Rebollar et al., 2014)

En resumen, en los estudios realizados en anfibios de bajas altitudes se ha encontrado que el quitridio está ampliamente distribuido, por lo que aún en esas altitudes, los anfibios son susceptibles de tener epizootias que pongan en riesgo sus poblaciones, lo que implica que no se deben escatimar los esfuerzos de monitoreo y conservación en los ecosistemas tropicales de zonas bajas (Bolom-Huet et al., 2019, von May et al., 2018).

En Australia, Norteamérica y Centroamérica se ha observado tanto en campo como en modelados de nicho, que los sitios cálidos con bajas elevaciones (por debajo de los 500 m s. n. m.) son poco apropiados para el desarrollo del *Bd* y se han propuesto incluso como posibles refugios ambientales para los anfibios (Puschendorf et al., 2009). En este contexto, la Península de Yucatán cumple con las características de clima, elevación, riqueza de

especies de anfibios y baja prevalencia de quitridio de los refugios ambientales, además de tener Áreas Naturales Protegidas bien delimitadas, que pueden seguir siendo espacios importantes para la conservación y estudio de las comunidades de anfibios.

Otro rasgo de la Península de Yucatán que puede estar siendo determinante en la baja prevalencia del quitridio, es que, por sus características geográficas, los cuerpos de agua donde se encuentran los anfibios son en gran parte temporales, con una tendencia a secarse parcial o totalmente en la temporada de secas. Se ha observado que los cuerpos de agua permanentes y lénticos tienen más presencia de *Bd* (Kriger y Hero, 2007), y que los ecosistemas a bajas altitudes tienen condiciones ambientales como la temperatura y humedad que no son favorables para el hongo (Rebollar et al., 2014).

En cuanto a la intensidad de infección, si no se toma en cuenta el valor más alto, osciló de 0.6 a 4807.39 E. G., lo cual es mayor a lo encontrado en Costa Rica; (0-1073 E. G.; Zumbado-Ulate et al., 2014) y similar a lo reportado en otros trabajos en México ((López-Velázquez, 2014; Murrieta-Galindo et al., 2014). Esto es interesante ya que normalmente en bajas altitudes no se encuentra la intensidad de infección elevada de alta montaña (Rebollar et al., 2014). Si bien en la Península de Yucatán se presentaron valores de prevalencia característicos de las altitudes bajas, la intensidad de infección registrada es más cercana a la observada en altitudes elevadas. Es posible que esté relacionado con el tipo de cepa de *Bd* presente o con la susceptibilidad de las especies, por lo que es un punto de partida para análisis posteriores (Kaiser y Pollinger, 2012).

El individuo de *Lithobates brownorum*, que presentó la intensidad de infección muy alta (25457.62 E. G.) en comparación de los otros casos positivos encontrados, se recolectó en el Ejido Cristóbal Colón (Coordenadas: 18.217465, -89.452543) Campeche, en abril del 2022. Esta localidad es un sitio perturbado, con alta presencia humana cerca de los cuerpos de agua. Las ranas del género *Lithobates* se encuentran fuertemente asociadas a los cuerpos de agua, por lo que tienen contacto constante con sitios que también son apropiados para el desarrollo del quitridio (Pintar y Resetarits, 2018), sobre todo en áreas perturbadas por actividades antrópicas (Alvarado-Rybak et al., 2021).

La familia que presentó más casos positivos y más muestras analizadas fue Hylidae, destacando tres especies: *Tlalocohyla loquax*, *Smilisca baudinii* y *Trachycephalus vermiculatus*, (Cuadro 1), lo cual concuerda con el patrón observado en otras poblaciones de anfibios en México (Muñoz-Alonso, 2013; Mendoza-Almeralla et al., 2015). Aunque la prevalencia es mayor en esta familia, la intensidad de infección es baja, por lo que puede ser que los hílidos estén coexistiendo con *Bd* o llegar a ser reservorios del patógeno. Por

otra parte, es posible que los componentes del microbioma de algunas especies de hílidos les permiten coexistir con el quitridio sin desarrollar la infección (Mendoza-Almeralla et al., 2015).

En la familia Bufonidae se esperaba una mayor prevalencia de *Bd* (Scheele et al., 2019). Sin embargo, sólo hubo un ejemplar positivo y con una intensidad de infección baja (35.63). Eso puede ser resultado de las características ambientales y climáticas antes mencionadas, las cuales no están favoreciendo una presencia elevada del hongo en los cuerpos de agua donde los anfibios habitan.

Las familias Plethodontidae, Rhinophrynidae y Microhylidae no presentaron casos positivos de *Bd*, como se esperaba. Los anfibios de estas familias se encontraban principalmente en la hojarasca en el momento de ser colectados, y es probable que la humedad del suelo no sea suficiente para favorecer el crecimiento del hongo (Rebollar et al., 2014).

Las especies de anfibios presentes en ecosistemas tropicales a bajas altitudes tienen amplia variación en la intensidad de infección, lo que ha llevado a hipotetizar que algunas tienen características conductuales, de microbioma o de sistema inmune que explican estas diferencias (Rebollar et al., 2014). Esto se observa claramente en la Península de Yucatán, donde la intensidad de infección fue estadísticamente diferente entre especies y familias, lo cual va de la mano con la observación de que cada especie e incluso cada individuo reacciona de forma diferencial al quitridio, de acuerdo con múltiples factores que van desde el estado de desarrollo, hasta la historia filogenética de la familia.

En cuanto a los modos reproductivos, se encontró *Bd* en especies con reproducción tanto acuática como terrestre, aunque sólo un individuo de *Craugastor yucatanensis* fue positivo; por lo anterior podemos afirmar que se presentan más casos positivos de quitridio en familias con modos reproductivos acuáticos, lo cual es consistente con sus hábitos de historia de vida que los colocan en contacto frecuente con el hongo (Pintar y Resetarits, 2018).

La prevalencia fue baja y no hubo diferencias estadísticas entre el estado de conservación y la estacionalidad; lo obtenido mediante los análisis estadísticos puede ser consecuencia de los pocos casos positivos que conformaron la muestra.

El hecho de que 14 de 18 de los casos positivos se encontraron en sitios perturbados y de transición puede ser un indicador de que la comunidad de anfibios en el área de estudio es susceptible a la perturbación y ésta favorece la presencia de *Bd* (Alvarado-Rybak et al.,

2021). Por lo tanto, los sitios conservados representan un refugio importante para mantener poblaciones saludables (Zumbado-Ulate et al., 2014) en este caso en la región de Calakmul.

Reforzando lo anterior, es importante destacar que las localidades conservadas donde se detectó *Bd* fueron la UMA Caobas y la UMA Nuevo Becal-Reserva Zopilote Rey; ningún anfibio dentro de la zona núcleo de la Reserva de la Biosfera Calakmul presentó el hongo patógeno, lo cual enfatiza aún más la necesidad de cuidar los espacios con vegetación primaria no fragmentada donde las comunidades de anfibios están presentes.

Se ha reportado que los ambientes perturbados pueden actuar como refugios ante la infección por *Bd*, pero sólo en el caso de aquellas especies que se adaptan y resisten a los efectos del disturbio (Becker & Zamudio, 2011), por lo que sigue siendo importante priorizar la conservación de los ecosistemas. Considerando que en el sur de la Península de Yucatán se encontró que los ambientes conservados tienen baja prevalencia y baja infección de quitridio, estamos ante una ventana de oportunidad para evitar la fragmentación del hábitat de esos espacios y permitir que los anfibios mantengan sus poblaciones en buen estado. Además de que este trabajo nos ofrece una fotografía en el tiempo sobre cómo estaban los anfibios respecto del *Bd* justo en los meses previos al inicio de las obras de construcción de megaproyectos como el Tren Maya, lo cual representa una línea base de información importante para la evaluación de los efectos del impacto ambiental a corto, mediano y largo plazo (International Union for Conservation of Nature IUCN, 2020).

Dado que tanto en la temporada de secas como en la estación de lluvias se encontró *Bd* (siete y 13 positivos, respectivamente), se puede confirmar que el quitridio está presente de forma endémica en el sureste de México (Cheng et al., 2011), y en un período en el que no hay eventos de infección grave o de declives poblacionales perceptibles. En la mayoría de especies el promedio de intensidad de infección fue más alto en lluvias, lo cual coincide con el ciclo de vida del hongo que también requiere de la presencia de agua. El hecho de que la intensidad de infección en general sea baja en ambas estaciones es un ejemplo de cómo los ecosistemas de selvas con clima cálido en altitudes por debajo de los 700 m s. n. m., pueden estar actuando como refugios ambientales para los anfibios, ya que no favorecen la infección por *Bd* (Zumbado-Ulate et al., 2014).

Una tendencia que se ha observado al analizar la dinámica histórica del *Bd* en México, es que han ocurrido episodios de alta prevalencia que pueden estar ligados a eventos de extinción, y posteriormente pasan varios años en que se le encuentra en bajas cantidades en las especies presentes (Cheng et al., 2011).

Dado que *Bd* ya se encuentra establecido en México de forma endémica, cuando algún anfibio se enfrenta a un estresor, su sistema inmune puede verse comprometido y hacerle susceptible a desarrollar quitridiomycosis (Mendoza-Almeralla et al., 2015). Por ejemplo, se ha observado que en sitios donde han ocurrido epizootias y declives, es posible encontrar *Bd* en anfibios en altitudes bajas, lo que puede dar como resultado un evento de infección dadas las condiciones ambientales necesarias y la presencia de factores estresantes (Kilburn et al., 2010; Puschendorf et al., 2006). Si esto está ocurriendo en la Península, es necesario realizar monitoreos permanentes para evaluar la dinámica histórica, tomando en consideración la revisión de ejemplares de colecciones científicas.

Este trabajo se enfocó en analizar la mayor cantidad de especies presentes en el área de estudio, ya que no existía información previa suficiente sobre esta comunidad de anfibios. El siguiente paso es enfocarse en las especies más abundantes y en las que se detectó la presencia del hongo, para poder realizar comparaciones más detalladas sobre las variables ambientales a las que están asociadas y poder encontrar respuestas a por qué los anfibios de altitudes tropicales bajas parecen ser resistentes al quitridio (Kaiser y Pollinger, 2012; Kriger y Hero, 2007; Rebollar et al., 2014).

La Península de Yucatán es una región geográfica compleja cuya comunidad de anfibios presenta una gran variedad de historias de vida. El hecho de que existan bajas prevalencias e intensidades de infección reviste de importancia el conservar la biodiversidad de anfibios y evitar la fragmentación del hábitat, ya que puede ser un refugio ambiental para las especies presentes.

Conclusiones

La prevalencia promedio de *Batrachochytrium dendrobatidis* en los anfibios de la Península de Yucatán, México es del 3.4% y es más baja que la encontrada previamente en otros Estados de la República Mexicana. No hubo diferencias en la prevalencia del quitridio entre familias, especies o modos reproductivos, pero sí hay diferencias en la intensidad de infección entre familias y especies, sin embargo, la intensidad de infección de los individuos donde se encuentra presente *Bd* es baja. Dentro de las familias de anfibios analizadas en este proyecto, fue Hylidae la que presentó más casos positivos de *Bd*. Además, se encontró *Bd* en especies de anfibios con modos reproductivos acuáticos y terrestres. El hongo está, presente en sitios perturbados, en transición y conservados, y en la época de sequía y lluvias. De forma general el quitridio estuvo ampliamente distribuido en la zona de estudio, con la dinámica ecológica de los ambientes tropicales a bajas altitudes.

Referencias bibliográficas

- Alvarado-Rybak, M., Lepe-Lopez, M., Peñafiel-Ricourte, A., Valenzuela-Sánchez, A., Valdivia, C., Mardones, F. O., Bacigalupe, L. D., Puschendorf, R., Cunningham, A. A., & Azat, C. (2021). Bioclimatic and anthropogenic variables shape the occurrence of *Batrachochytrium dendrobatidis* over a large latitudinal gradient. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96535-w>
- Bacigalupe, L. D., Vásquez, I. A., Estay, S. A., Valenzuela-Sánchez, A., Alvarado-Rybak, M., Peñafiel-Ricourte, A., Cunningham, A. A., & Soto-Azat, C. (2019). The amphibian-killing fungus in a biodiversity hotspot: identifying and validating high-risk areas and refugia. *Ecosphere*, 10(5). <https://doi.org/10.1002/ecs2.2724>
- Barão-Nóbrega, J. A., Nahuat-Cervera, P. E., Avella, I., Capehart, G., García, B., Oakley, J., Theodoru, A., & Slater, K. Y. (2022). Herpetological diversity in Calakmul, Campeche, Mexico: species list with new distribution notes. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 93. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2022.93.3927>
- Basanta, M. D., Byrne, A. Q., Rosenblum, E. B., Piovita-Scott, J., & Parra-Olea, G. (2021). Early presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* in Mexico with a contemporary dominance of the global panzootic lineage. *Molecular Ecology*, 30(2). <https://doi.org/10.1111/mec.15733>
- Becker, C. G., & Zamudio, K. R. (2011). Tropical amphibian populations experience higher disease risk in natural habitats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(24). <https://doi.org/10.1073/pnas.1014497108>
- Berger L., Speare R., Daszak P., Green D. E., Cunningham A. A., Goggin C. L., Slocombe R., Ragan M. A., Hyatt A. D., Mc-Donald K. R., Hines H. B., Lips K. R., Marantelli G., Parkes H. (1998). Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:9031-9036. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.15.9031>
- Berger, L., Speare, R., Hines, H. B., Marantelli, G., Hyatt, A. D., McDonald, K. R., Skerratt, L. F., Olsen, V., Clarke, J. M., Gillespie, G., Mahony, M., Sheppard, N., Williams, C., & Tyler, M. J. (2004). Effect of season and temperature on mortality in amphibians due to chytridiomycosis. *Australian Veterinary Journal*, 82(7). <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2004.tb11137.x>

- Bolom-Huet, R., Pineda, E., Díaz-Fleischer, F., Muñoz-Alonso, A. L., & Galindo-González, J. (2019). Known and estimated distribution in Mexico of *Batrachochytrium dendrobatidis*, a pathogenic fungus of amphibians. *Biotropica*, 51(5), 731–746. <https://doi.org/10.1111/btp.12697>
- Boyle, D. G., Boyle, D. B., Olsen, V., Morgan, J. A. T., & Hyatt, A. D. (2004). Rapid quantitative detection of chytridiomycosis (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in amphibian samples using real-time Taqman PCR assay. *Diseases of Aquatic Organisms*, 60(2). <https://doi.org/10.3354/dao060141>
- Brem, F. M. R. y Lips, K. R. (2008). *Batrachochytrium dendrobatidis* infection patterns among Panamanian amphibian species, habitats and elevations during epizootic and enzootic stages. *Diseases of Aquatic Organisms*, 81(3). <https://doi.org/10.3354/dao01960>
- Cabrera Hernández, R. (2012). Evaluación de la presencia del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis*, en poblaciones de anfibios en área cero extinción (aze) en Oaxaca y Chiapas, México. *Lacandonia*, 6(1).
- Capucchio, T., Colombino, M., Tarantola, E., Biagini, M., Giovanni Alborali, D., Marco L., Maisano, A., ... Guarda, F. (2019). The Disturbed Habitat and Its Effects on the Animal Population. *IntechOpen*. doi: 10.5772/intechopen.84872
- Cheng, T. L., Rovito, S. M., Wake, D. B., & Vredenburg, V. T. (2011). Coincident mass extirpation of neotropical amphibians with the emergence of the infectious fungal pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(23). <https://doi.org/10.1073/pnas.1105538108>
- Fleming, R. I., Mackenzie, C. D., Cooper, A., Kennedy, M. W. (2009). Foam nests components of the túngara frog: a cocktail of proteins conferring physical and biological resilience. *Proc Biol Sci*. doi: 10.1098/rspb.2008.1939
- Frías-Alvarez, P., Vredenburg, V. T., Familiar-López, M., Longcore, J. E., González-Bernal, E., Santos-Barrera, G., Zambrano, L., & Parra-Olea, G. (2008). Chytridiomycosis survey in wild and captive Mexican amphibians. *EcoHealth*, 5(1). <https://doi.org/10.1007/s10393-008-0155-3>
- García-Feria, L. M., Brousset, D. M., & Cervantes-Olivares, R. A. (2019). Factores abióticos y bióticos determinantes para la presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* en anfibios

- González-Sánchez, V. H., Johnson, J. D., García-Padilla, E., Mata-Silva, V., DeSantis, D. L., & Wilson, L. D. (2017). The Herpetofauna of the Mexican Yucatan Peninsula: composition, distribution, and conservation status. *Mesoamerican Herpetology*, 4(2).
- Hale, S. F., Rosen, P. C., Jarchow, J. L. y Bradley, G. A. (2005). Effects of the chytrid fungus on the Tarahumara frog (*Rana tarahumarae*) in Arizona and Sonora, Mexico. *USDA Forest Service Proceedings*, 36, 407–411.
- Hernández-Betancourt, S., Medina-Peralta, S., Chablé-Santos, J., Sélem-Salas, C.I., González-Pérez, M., Canseco-Balam, L., Góngora-Salinas, J. (2012). Riqueza y abundancia de pequeños roedores en dos agroecosistemas y un acahual presentes en la reserva Cuxtal, Mérida, Yucatán. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 15(2), pp. 329-336.
- Hernández-López, P., Santiago-Alarcón, D., López-Velázquez, A. (2018). Factores ecológicos que afectan la infección por *Batrachochytrium dendrobatidis* en anfibios de México. pp. 53-78, en López-Velázquez, A., Basanta, M. D., Ochoa-Ochoa, L. M. (eds). *Quitridiomycosis en México. Publicación especial de la Sociedad Herpetológica Mexicana A. C. No. 5.*
- Hernández-Martínez, L. Á., Romero-Méndez, U., González-Barríos, J. L., García-De la Peña, Ma. C., & Amézquita-Torres, A. (2019). Nuevos registros y prevalencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* en anuros de la cuenca Nazas-Aguanaval en la región norte-centro de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 90(1).
<https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2019.90.2934>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía, INEGI. (2022). Yucatán. Disponible en <https://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/yuc/territorio/clima.aspx>
- International Union for Conservation of Nature IUCN. (2020). Ancient Maya City and Protected Tropical Forests of Calakmul, Campeche Conservation Outlook Assessment. The IUCN World Heritage Outlook: <https://worldheritageoutlook.iucn.org/>. Finalizado el 4 de Diciembre de 2020.
- James, T. Y., Toledo, L. F., Rödder, D., da Silva Leite, D., Belasen, A. M., Betancourt-Román, C. M., Jenkinson, T. S., Soto-Azat, C., Lambertini, C., Longo, A. v., Ruggeri, J., Collins, J. P., Burrowes, P. A., Lips, K. R., Zamudio, K. R., & Longcore, J. E. (2015). Disentangling host, pathogen, and environmental determinants of a recently emerged wildlife disease:

- Lessons from the first 15 years of amphibian chytridiomycosis research. *Ecology and Evolution*, 5(18). <https://doi.org/10.1002/ece3.1672>
- Kaiser, K., & Pollinger, J. (2012). Batrachochytrium dendrobatidis shows high genetic diversity and ecological niche specificity among haplotypes in the maya mountains of belize. *PLoS ONE*, 7(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032113>
- Kruger, K. M., & Hero, J. M. (2007). The chytrid fungus Batrachochytrium dendrobatidis is non-randomly distributed across amphibian breeding habitats. *Diversity and Distributions*, 13(6). <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2007.00394.x>
- Kruger, K. M., & Hero, J.-M. (2008). Altitudinal distribution of chytrid (Batrachochytrium dendrobatidis) infection in subtropical Australian frogs. *Austral Ecology*, 33(8), 1022–1032. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2008.01872.x>
- Lambertini, C., Becker, C. G., M. Belasen, A., Valencia-Aguilar, A., Nunes-de-Almeida, C. H. L., Betancourt-Román, C. M., Rodriguez, D., da Silva Leite, D., Oliveira, I. S., Gasparini, J. L., Ruggeri, J., Mott, T., Jenkinson, T. S., James, T. Y., Zamudio, K. R., & Toledo, L. F. (2021). Biotic and abiotic determinants of Batrachochytrium dendrobatidis infections in amphibians of the Brazilian Atlantic Forest. *Fungal Ecology*, 49. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2020.100995>
- Lee, J. C. (1996). *The amphibians and reptiles of the Yucatán Peninsula*. Cornell University Press.
- Li, Z., Wang, Q., Sun, K., & Feng, J. (2021). Prevalence of Batrachochytrium dendrobatidis in Amphibians from 2000 to 2021: A Global Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Veterinary Science* (Vol. 8). <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.791237>
- Lips K. R., Mendelson III J.R., Muñoz-Alonso A., Canseco-Marquez L. & Mulcahy D. G. (2004) Amphibian population declines in montane southern Mexico: Resurveys of historical localities. *Biol Conserv* 119:555–564. doi:10.1016/j.biocon.2004.01.017
- Lips, K. R., Brem, F., Brenes, R., Reeve, J. D., Alford, R. A., Voyles, J., Carey, C., Livo, L., Pessier, A. P., & Collins, J. P. (2006). Emerging infectious disease and the loss of biodiversity in a Neotropical amphibian community. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(9). <https://doi.org/10.1073/pnas.0506889103>

- Longcore J. E., Pessier A. P., Nichols D. K. (1999) *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia*. 91:219–227. doi: 10.1080/00275514.1999.12061011.
- Longo, A. v., Burrowes, P. A., & Joglar, R. L. (2010). Seasonality of *Batrachochytrium dendrobatidis* infection in direct-developing frogs suggests a mechanism for persistence. *Diseases of Aquatic Organisms*, 92(2–3). <https://doi.org/10.3354/dao02054>
- López-Velazquez, A. (2014). Dinámica estacional de la infección por el hongo quitridio *Batrachochytrium dendrobatidis* en una población de salamandras de la especie *Pseudoeurycea leprosa* (Cope, 1869) en el Parque Nacional La Malinche. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- López-Velázquez, A. (2018). Ocurrencia de la quitridiomycosis en México. pp. 35-52, en López-Velázquez, A., Basanta, M. D., Ochoa-Ochoa, L. M. (eds). Quitridiomycosis en México. Publicación especial de la Sociedad Herpetológica Mexicana A. C. No. 5.
- Luja, V. H., Rodríguez-Estrel la, R., Ratzlaff, K., Parra-Olea G. y Ramírez-Bautista, A. (2012). The chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* in isolated populations of the Baja California tree frog *Pseudacris hypochondriaca curta* in Baja California Sur, Mexico. *The Southwestern Naturalist*, 57, 323–327. doi: <http://dx.doi.org/10.1894/0038-4909-57.3.323>
- Mendoza-Almeralla, C., Burrowes, P., & Parra-Olea, G. (2015). La quitridiomycosis en los anfibios de México: Una revisión. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 86(1). <https://doi.org/10.7550/rmb.42588>
- Mesquita, A. F. C., Lambertini, C., Lyra, M., Malagoli, L. R., James, T. Y., Toledo, L. F., Haddad, C. F. B., & Becker, C. G. (2017). Low resistance to chytridiomycosis in direct-developing amphibians. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16425-y>
- Muñoz-Alonso, L. A. (2013). Riqueza, diversidad y estatus de los anfibios amenazados en el sureste de México; una evaluación para determinar las posibles causas de la declinación de sus poblaciones. El Colegio de la Frontera Sur, Critical Ecosystem Partnership Found, Arizona State University.
- Murrieta-Galindo, R., Parra-Olea, G., González-Romero, A., López-Barrera, F., & Vredenburg, V. T. (2014). Detection of *Batrachochytrium dendrobatidis* in amphibians inhabiting cloud forests and coffee agroecosystems in central Veracruz, Mexico. *European Journal of Wildlife Research*, 60(3). <https://doi.org/10.1007/s10344-014-0800-9>

- Nava-González, B. A., Suazo-Ortuño, I., Parra-Olea, G., López-Toledo, L., Alvarado-Díaz, J. (2020). *Batrachochytrium dendrobatidis* infection in amphibians from a high elevation habitat in the trans-Mexican volcanic belt. *Aquat Ecol.* 54. 75-87.
- Pintar, M. R., & Resetarits, W. J. (2018). Variation in Pond Hydroperiod Affects Larval Growth in Southern Leopard Frogs, *Lithobates sphenoccephalus*. *Copeia*, 106(1). <https://doi.org/10.1643/CE-17-696>
- Pounds, J. A., Bustamante, M. R., Coloma, L. A., Consuegra, J. A., Fogden, M. P. L., Foster, P. N., la Marca, E., Masters, K. L., Merino-Viteri, A., Puschendorf, R., Ron, S. R., Sánchez-Azofeifa, G. A., Still, C. J., & Young, B. E. (2006). Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming. *Nature* (Vol. 439, Issue 7073). <https://doi.org/10.1038/nature04246>
- Puschendorf, R., Bolaños, F., & Chaves, G. (2006). The amphibian chytrid fungus along an altitudinal transect before the first reported declines in Costa Rica. *Biological Conservation*, 132(1). <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2006.03.010>
- Puschendorf, R., Carnaval, A. C., Vanderwal, J., Zumbado-Ulate, H., Chaves, G., Bolaños, F., & Alford, R. A. (2009). Distribution models for the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis* in Costa Rica: Proposing climatic refuges as a conservation tool. *Diversity and Distributions*, 15(3). <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2008.00548>
- Quintero-Díaz, G. E., Muñoz-Alonso, A., Lips, K. R. (2013). *Batrachochytrium dendrobatidis*: Un hongo patógeno de anfibios. pp. 361-364. En: La biodiversidad en Chiapas: Estudio de Estado. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) y Gobierno del Estado de Chiapas, México
- Rebollar, E. A., Hughey, M. C., Harris, R. N., Domangue, R. J., Medina, D., Ibáñez, R., & Belden, L. K. (2014). The lethal fungus *batrachochytrium dendrobatidis* is present in lowland tropical forests of Far Eastern Panamá. *PLoS ONE*, 9(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095484>
- Richards-Hrdlicka, K. L. (2013). Preserved specimens of the extinct golden toad of Monteverde (*Cranopsis periglenes*) tested negative for the amphibian chytrid fungus (*Batrachochytrium dendrobatidis*). *Journal of Herpetology*, 47(3), 456–458. <https://doi.org/10.1670/11-243>
- Rodrigues, L. C., Borges da Silva, T., Klein, W., dos Santos Fernandes, M. (2020). Analysis of abiotic factors associated with foam nests of Cuvier's foam froglet (*Physalaemus cuvieri*)

in southeastern Brazil. *Neotropical Biology and Conservation*. 15 (4). doi:
10.3897/neotropical.15.e57804

- Sapsford, S. J., Alford, R. A., & Schwarzkopf, L. (2013). Elevation, temperature, and aquatic connectivity all influence the infection dynamics of the amphibian chytrid fungus in adult frogs. *PLoS ONE*, 8(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082425>
- Scheele, B. C., Pasmans, F., Skerratt, L. F., Berger, L., Martel, A., Beukema, W., Acevedo, A. A., Burrowes, P. A., Carvalho, T., Catenazzi, A., de La Riva, I., Fisher, M. C., Flechas, S. v., Foster, C. N., Frías-Álvarez, P., Garner, T. W. J., Gratwicke, B., Guayasamin, J. M., Hirschfeld, M., ... Canessa, S. (2019). Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity. *Science*, 363(6434). <https://doi.org/10.1126/science.aav0379>
- Seimon, T. A., Seimon, A., Daszak, P., Halloy, S. R. P., Schloegel, L. M., Aguilar, C. A., Sowell, P., Hyatt, A. D., Konecky, B., & Simmons, J. E. (2007). Upward range extension of Andean anurans and chytridiomycosis to extreme elevations in response to tropical deglaciation. *Global Change Biology* (Vol. 13, Issue 1). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2006.01278.x>
- Stevenson L. A., Alford R. A., Bell S. C., Roznik E. A., Berger L., Pike D. A. (2013). Variation in thermal performance of a widespread pathogen, the amphibian chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. *PLoS One*, 8, e73830.
- Varns, T., Cortez, R., Hovani, L., and Kingsbury, P. (2018). Yucatán Peninsula, Mexico: A Jurisdictional Approach to Conserving the Maya Forest. The Nature Conservancy, Arlington, VA, USA.
- Vázquez-Domínguez, E., & Arita, H. T. (2010). The Yucatan peninsula: Biogeographical history 65 million years in the making. *Ecography*, 33(2). <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2009.06293.x>
- Villaseñor, J. L., Durán, R., & Meave, J. (2002). Biogeographical analysis of the tree flora of the Yucatan Peninsula. *Journal of Biogeography*, 29(1). <https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.2002.00648.x>
- von May, R., Catenazzi, A., Santa-Cruz, R., Kosch, T. A., & Vredenburg, V. T. (2018). Microhabitat temperatures and prevalence of the pathogenic fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* in lowland amazonian frogs. *Tropical Conservation Science*, 11, 194008291879705. <https://doi.org/10.1177/1940082918797057>

- Voyles, J., Johnson, L. R., Rohr, J., Kelly, R., Barron, C., Miller, D., Minster, J., & Rosenblum, E. B. (2017). Diversity in growth patterns among strains of the lethal fungal pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* across extended thermal optima. *Oecologia*, 184(2). <https://doi.org/10.1007/s00442-017-3866-8>
- Vredenburg, V. T., Knapp, R. A., Tunstall, T. S., & Briggs, C. J. (2010). Dynamics of an emerging disease drive large-scale amphibian population extinctions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(21). <https://doi.org/10.1073/pnas.0914111107>
- Vredenburg, V. T., (2020). Information on amphibian biology and conservation. Amphibia Web: Berkeley, California. Disponible en https://amphibiaweb.org/chytrid/swab_protocol.html
- Walker, S. F., Bosch, J., Gomez, V., Garner, T. W. J., Cunningham, A. A., Schmeller, D. S., Ninyerola, M., Henk, D. A., Ginestet, C., Arthur, C. P., & Fisher, M. C. (2010). Factors driving pathogenicity vs. prevalence of amphibian panzootic chytridiomycosis in Iberia. *Ecology Letters*, 13(3). <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01434.x>
- Zumbado-Ulate, H., Bolaños, F., Gutiérrez-Espeleta, G., & Puschendorf, R. (2014). Extremely Low Prevalence of *Batrachochytrium dendrobatidis* in Frog Populations from Neotropical Dry Forest of Costa Rica Supports the Existence of a Climatic Refuge from Disease. *EcoHealth*, 11(4). <https://doi.org/10.1007/s10393-014-0967-2>
- Zumbado-Ulate, H., García-Rodríguez, A., Vredenburg, V. T., & Searle, C. (2019). Infection with *Batrachochytrium dendrobatidis* is common in tropical lowland habitats: Implications for amphibian conservation. *Ecology and Evolution*, 9(8). <https://doi.org/10.1002/ece3.5098>