



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

Centro Interdisciplinario para la Investigación y el Desarrollo

Integral Regional Unidad Oaxaca

Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de
Recursos naturales

**Efecto de la perturbación humana sobre la abundancia, uso
de hábitat y funcionamiento fisiológico de *Rhinella marina*
en Villa de Zaachila, Oaxaca.**

Tesis

Que para obtener el Grado de:

Maestro en Ciencias

Presenta:

Orlando González Trejo

Director de Tesis:

Dra. Edna Leticia González Bernal

Sta. Cruz Xoxocotlán, Oaxaca de Juárez; Enero 2018



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Oaxaca de Juárez siendo las 12:37 horas del día 15 del mes de Enero del 2018 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de _____ para examinar la tesis titulada:

Efecto de la perturbación humana sobre la abundancia, uso de hábitat y funcionamiento fisiológico de *Rhinella marina* en Villa de Zaachila, Oaxaca.

Presentada por el alumno:

González Trejo
Apellido paterno Apellido materno
Nombre(s)
Orlando Con registro:

B	1	5	0	5	1	2
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales

Después de intercambiar opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Director(a) de tesis

Dra. González Bernal Edna Leticia

Dr. Williams John

Dr. Santos Moreno José Antonio

Dr. Rös Matthias

Dra. Durán Medina Emma

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

Dr. Belmonte Jiménez Salvador Isidro



CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.I.D.I.R.
UNIDAD OAXACA
I.P.N.

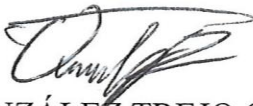


INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de México, D.F. el día 15 del mes de enero del año 2018, el (la) que suscribe GONZÁLEZ TREJO ORLANDO alumno(a) del Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES, con número de registro B150512, adscrito(a) al **Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca**, manifiesto(a) que es el (la) autor(a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del (de la, de los) **Dra. Edna Leticia González Bernal** y cede los derechos del trabajo titulado **“Efecto de la perturbación humana sobre la abundancia uso de hábitat y funcionamiento fisiológico de *Rhinella marina* en Villa de Zaachila, Oaxaca”**, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del (de la) autor(a) y/o director(es) del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a las siguientes direcciones posgradoax@hotmail.com ó sugarkane-9999@hotmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.


GONZÁLEZ TREJO ORLANDO
Nombre y firma del alumno(a)



CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.I.D.I.R.
UNIDAD OAXACA
I.P.N.

*El salto tiene algo de latido:
viéndolo bien, el sapo es todo corazón*

Juan José Arreola

A mi familia:

En especial a mi mamá, Rita Trejo Zamarripa, a mis hermanos:

Diego, Yazmín y Friedha,

quienes con su amor y apoyo me han motivado a seguir adelante.

Agradecimientos

Al Posgrado en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales del Instituto Politécnico Nacional, por la beca tesis. Al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada con no. de registro 718249 para realizar los estudios de Maestría. A las autoridades de Villa de Zaachila y Sta. Inés del Monte por los permisos para el trabajo de campo.

A la Dra. Edna Leticia González Bernal por su apoyo, energismo y aporte en la realización de este proyecto. También agradezco a los miembros del Comité tutorial, Dr. José Antonio Santos Moreno, Dr. John Williams, Dr. Matthias Rös y Dra. Elvira Durán Medina por su contribución y comentarios. Al M. en C. Matías Martínez Coronel por brindarme su ayuda, conocimientos y compañía, en especial durante la noche de pruebas de PAE, así como abrirme las puertas de su casa.

También agradezco a Antonio León y Carlos Masés por su ayuda en el trabajo de campo. A mis compañeros y amigos Nicté Díaz Bernal y Roberto Berlio López, por su ayuda en campo, conocimientos, amistad, y tiempo compartido. A César Tonatiuh Aldape por su ayuda en campo y su buen humor.

Al Dr. Miguel Chávez Gutiérrez por permitirme realizar las pruebas de rendimiento físico en su laboratorio. Al Biólogo Raúl Rivera García por su ayuda, tiempo y por abrirme las puertas de su laboratorio para evaluar las temperaturas ambientales históricas.

Indice

I. Introducción	1
II. Marco teórico	4
A. Perturbación humana como causa principal en el declive de anfibios.	4
B. Implicaciones fisiológicas	6
1. Tolerancia térmica.....	6
2. Termorregulación	7
3. Pérdida de Agua por Evaporación (PAE).....	9
III. Especie en estudio	11
IV. Hipótesis	13
V. Planteamiento de Problema	13
VI. Objetivo	14
VII. Metodología	15
A. Trabajo de Campo	15
1. Área de estudio.....	15
2. Muestreo de individuos de <i>Rhinella marina</i>	22
3. Caracterización del hábitat	23
4. Aspectos fisiológicos.....	27
4.1 Determinación de Pérdida de Agua por Evaporación (PAE) empleando modelos de agar.....	27
Trabajo de Laboratorio.....	30
1. Aspectos Fisiológicos.....	30
1.1 Determinación de Tolerancia Térmica: Temperatura Critica Máxima (TCMax) y Temperatura Critica Mínima (TCMin).....	30
2. Determinación de temperaturas ambientales históricas (1995-2014).....	31

VIII. Resultados	33
1. Características del hábitat.....	33
2. Muestreos de individuos de <i>Rhinella marina</i>	38
a. Condición corporal.....	41
b. Temperatura Corporal.....	44
c. Uso de Microhábitat.....	45
d. Comportamiento.....	46
3. Implicaciones Fisiológicas.....	49
a. Pérdida de Agua por Evaporación.....	49
b. Pruebas de Rendimiento Físico.....	52
4. Temperaturas ambientales históricas (1995-2014).....	55
IX. Discusión	56
1. Características del hábitat.....	56
2. Presencia de <i>Rhinella marina</i> entre sitios.....	58
3. Implicaciones fisiológicas.....	63
a. Pérdida de Agua por Evaporación.....	63
a. Rendimiento físico.....	66
X. Conclusiones	71
XI. Bibliografía	72
Anexo 1. Modelos de agar.....	80

Índice de figuras y tablas

Figura 1. Mapa de Villa de Zaachila. Los muestreos de <i>Rhinella marina</i> se llevaron a cabo en cuerpos de agua circundantes a Villa de Zaachila.	17
Figura 2. De izquierda a derecha se observa la Presa agrícola principal y frente de la misma.	18
Figura 3. A la izquierda se muestra la presa agrícola secundaria con agua y a la derecha al vaciarse por apertura de compuertas.	19
Figura 4. Poza natural no. 1.	19
Figura 5. Poza natural no.2.	20
Figura 6. Presa agrícola no. 1.	20
Figura 7. Presa agrícola no. 2.	21
Figura 8. Poza natural no. 3.	21
Figura 9. Esquema del método utilizado para estimar la densidad de arbustos. Dentro de la subunidad de 4 m (circulo azul) se contabilizaron arbustos con leño ≥ 5 cm y en la subunidad de 8 m de circunferencia (circulo anaranjado) se contabilizaron arbustos con leño ≥ 10 cm.	25
Figura 10. Biplot, componente 1 (eje x), contiene las variables de profundidad del cuerpo de agua y suavidad del suelo, componente 2 (eje y), contiene las variables de distancia de asentamientos humanos y densidad de herbáceas y arbustos.	34
Figura 11. Disponibilidad de alimento en presas agrícolas vs pozas naturales. La línea punteada hace referencia a la media global en la disponibilidad de alimento en ambos sitios. Observamos que el grafico de caja y bigotes de pozas naturales se desplaza hacia arriba, lo que indica que las pozas naturales disponen de más alimento en contraste con las presas agrícolas.	36
Figura 12. Humedad relativa ambiental (%) de presas agrícolas vs. pozas naturales. La línea punteada muestra la media global de humedad relativa ambiental (%) en ambos sitios. A pesar de no ser tan evidente la diferencia de medias en el segundo cuartil de las gráficas de caja y bigote, se observa el desplazamiento hacia arriba de pozas naturales, mostrando una tendencia significativa en comparación a las presas agrícolas.	37
Figura 13. Presencia de <i>Rhinella marina</i> . En el eje y se observa el número de individuos, mientras que en el eje x hace referencia a la estacionalidad. En azul se expresan las pozas naturales y en verde las presas agrícolas.	38

Figura 14. Presencia de adultos de *Rhinella marina* (hembras y machos) en ambas estaciones (lluvias y secas). En azul se muestra el número de sapos machos y en rojo el de hembras. Las barras indican que los machos son más frecuentes que las hembras, tanto en la estación humedad como seca..... 40

Figura 15. Condición corporal en hembras de *Rhinella marina*, en pozas naturales vs. presas agrícolas. La condición corporal media de hembras en pozas naturales es mayor que en presas agrícolas. Por tal se observa un desplazamiento del grafico de caja y bigotes hacia arriba. 42

Figura 16. Condición corporal en juveniles de *Rhinella marina*, en pozas naturales vs. presas agrícolas. La condición corporal media de juveniles en presas agrícolas es significativamente mayor a lo observado en el gráfico de caja y bigotes de pozas naturales..... 43

Figura 17. Temperatura corporal (°C) de juveniles y adultos de *Rhinella marina*. La línea punteada muestra la temperatura corporal media (19°C) entre juveniles y adultos. El desplazamiento del gráfico de adultos hacia arriba, indica que la temperatura corporal media es mayor a lo registrado en juveniles.44

Figura 18. Uso de microhábitat de *Rhinella marina* durante el muestreo. Sin distinción del sitio, estacionalidad, estadio y sexo, la vegetación fue el microhábitat más usado con 162 individuos, seguido del agua con 147, sustrato con 73 y en menor número roca con 16 registros. 45

Figura 19. Conductas observadas en individuos de *Rhinella marina*. La conducta más usual fue el reposo con 124 individuos en pozas naturales y 78 en presas agrícolas. Como se observa en el gráfico, no se observaron individuos alimentándose en las presas agrícolas..... 47

Figura 20. Periodo de vocalización de machos entre sitios. En azul se expresa el número de machos vocalizando en pozas naturales y en rojo en presas agrícolas. 48

Figura 21. Pérdida de agua, entre modelos de adultos y juveniles después de 10 horas. El gráfico de caja y bigotes para modelos juveniles, indica que el porcentaje medio de agua pérdida después de 10 horas es mayor al de los modelos de adultos..... 50

Figura 22. Modelos de agar a diferentes tratamientos, después de 10 horas. El porcentaje de deshidratación medio para tratamientos privados de humedad (Sol-seco y sombra-húmedo) es mayor al de los tratamientos húmedos. La línea punteada señala el porcentaje de deshidratación media global (12%). 51

Figura 23. Número de vueltas efectuadas por *Rhinella marina* a distintas temperaturas (°C). El mayor desempeño se observa sobre los 23°C, conforme la temperatura se aproxima a los extremos de 13 y 33°C el desempeño disminuye, lo cual se refleja en el número de vueltas efectuado..... 53

Figura 24. Velocidad de individuos evaluada a distintas temperaturas. Las gráficas de caja y bigotes muestran la velocidad de individuos a diferentes gradientes de temperatura. Se observa que la velocidad media de algunos individuos fue mayor frente a los 23°C. 54

Figura 25. Temperaturas ambientales históricas de los sitios estudiados en un periodo de veinte años (1995 – 2014). Observamos que la temperatura media global es de 28.8 °C (línea punteada) y que el desplazamiento de las gráficas de caja y bigote hacia la parte superior, indican un aumento de la temperatura ambiental. 55

Tabla 1. Valores absolutos de variables muestreadas en cada sitio. Primer componente agrupa sitios menos superficiales y mayor con firmeza del suelo. Segundo componente sitios más lejanos de asentamientos humanos y con mayor densidad de vegetación. Los primeros dos componentes en conjunto explican el 73.3% de la información proyectada en el biplot. 35

Resumen

Las diversas actividades humanas son responsables de la transformación del hábitat de muchas especies. Entre los vertebrados, los anfibios son los que presentan actualmente las tasas más aceleradas de extinción. En este estudio se evaluaron los efectos de la temperatura y humedad ambiental y perturbación humana causada por el represamiento de cuerpos de agua en la presencia, uso de hábitat y fisiología de *Rhinella marina* en Villa de Zaachila, Oaxaca. El efecto de la transformación del hábitat se evaluó mediante el muestreo de sapos en tres pozas naturales y cuatro presas agrícolas. Los resultados muestran que las pozas naturales presentan mejores condiciones de hábitat que favorecen la presencia de *esta especie* en ambas estaciones (lluvias y secas). No obstante, al contrastar la presencia de sapos por estadios, se observa que existe un uso diferencial de hábitat por estadios, siendo los juveniles los que frecuentemente usan presas agrícolas.

Los efectos de los cambios de temperatura y humedad, se evaluaron mediante modelos de agar de adultos y juveniles, además se realizaron pruebas de rendimiento físico a sapos vivos. Los modelos de agar de juveniles se deshidrataron más rápido (16.3%) que los adultos (11.5%), durante el periodo de mayor actividad de *Rhinella marina*, donde los modelos privados de humedad perdieron agua de forma significativa. No obstante, las pruebas de rendimiento físico, revelan que el desempeño óptimo de los sapos está determinado por la temperatura ambiental y no por los niveles de hidratación evaluados, siendo los 23°C la temperatura a la que los individuos de esta especie muestran mejor desempeño y los 13 y 33°C las temperaturas a las que la especie muestra reduce significativamente su actividad.

A pesar de que tradicionalmente *Rhinella marina* ha sido considerado como un anfibio altamente tolerante a la perturbación humana nuestros resultados muestran diversos factores que pueden alterar su hábitat y por consiguiente afectarlo negativamente. De forma paralela, debido a su abundancia, esta especie ofrece la oportunidad de recabar datos para evaluar la influencia de la transformación del hábitat y las variaciones de temperatura y humedad sobre las poblaciones de anfibios nativos. Consideramos que nuestros resultados contribuyen al entendimiento sobre los efectos que estos factores pueden tener sobre otros anfibios nativos aún más sensibles.

Abstract

Several human activities are responsible of the transformation of the habitat of many species. Among vertebrates, amphibians are currently experiencing the most accelerated extinction rates. In this study we evaluated the effects of environmental temperature and humidity and human perturbation through the transformation of water bodies, on the presence, habitat use and physiology of *Rhinella marina* in Villa de Zaachila, Oaxaca. The effect of habitat transformation was evaluated by sampling toads in three natural pools and four agricultural dams.

The results show that the natural pools are characterized by habitat conditions that favour the prevalence of this species in both the rainy and dry seasons. However, when contrasting the presence of toads by life stage, we observed a marked difference in habitat use by ages, being the juveniles the ones that use human made dams more frequently.

The effects of environmental temperature and humidity variation were evaluated using adult and juvenile agar models, and physical performance tests were carried out on alive toads. Juvenile agar models dehydrated faster (16.3%) than adult models (11.5%), during the period of greater activity of *Rhinella marina*, and all models deprived of humidity showed significant water loss. Nevertheless, the physical performance tests revealed that the optimum performance of the toads was determined more by the environmental temperature and less by the hydration levels. We found 23°C to be the optimal temperature for toad activity, while toads observed in conditions of 13 and 33 °C showed significant reductions in activity.

Although *Rhinella marina* traditionally has been considered as a highly tolerant amphibian to human disturbance, it shows evidence of being adversely affected by deviations from its preferred habitat and climate. Due its abundance, this species offers the opportunity to collect data to assess the influence of habitat transformation and climate variations on amphibian populations, generally. More particularly, our results should be useful for inferring the effects that these factors may have on sensitive native species.

I. Introducción

En las últimas décadas los anfibios han llamado la atención de los científicos, debido al avance en el entendimiento de que, a diferencia de cualquier otro taxón, existe una mayor proporción de especies de este grupo que están en peligro de extinción (Collins y Storfer, 2003; Stuart, *et. al.*, 2004; Beebee y Griffiths, 2005; Wake y Vredenburg, 2008; Collins y Crump, 2009). Las causas de dicha situación son diversas como: la destrucción y alteración del hábitat, por la deforestación, erosión del suelo, y la pérdida de cuerpos de agua (Blaustein y Kiesecker, 2002; Collins y Storfer, 2003) la proliferación de especies invasoras (Kats y Ferrer, 2003), el aumento de la radiación UV-B como consecuencia del deterioro de la capa de ozono, contaminantes químicos como plaguicidas que se concentran en el ambiente (Carey *et. al.*, 2001; Blaustein y Kiesecker, 2003; Blaustein y Bancroft, 2007), enfermedades emergentes como la quitridiomycosis que se relaciona con déficit del sistema inmunológico causado por estrés provocado por alteraciones en el ambiente (Collins y Storfer 2003; Daszak *et al.*, 2003; Lips *et. al.*, 2008), y las variaciones drásticas de temperatura y precipitación, resultado del cambio climático global (Carey y Alexander, 2003; Blaustein *et. al.*, 2010; Duarte *et. al.*, 2012; Huey *et. al.*, 2012). De acuerdo a la (UICN, 2015) el 41% de los anfibios se encuentra en peligro de extinción, cifras que los posiciona en el grupo de vertebrados más amenazado. Incluso hay quienes afirman que de seguir dicha situación los anfibios podrían formar parte de una extinción importante, la sexta extinción (Collins y Storfer, 2003; Stuart, *et. al.*, 2004; Beebee y Griffiths, 2005; Wake y Vredenburg, 2008; Collins y Crump, 2009).

A pesar de que México ocupa el quinto país a nivel mundial en riqueza de anfibios, el estado de las poblaciones de los mismos en la mayoría de los casos es desconocido. Se ha estimado que existen 376 especies de anfibios en el territorio nacional, siendo Oaxaca, Chiapas y Veracruz los estados más diversos (Parra-Olea, *et. al.*, 2014). No obstante, México es considerado uno de los cinco países con un alto número de especies de anfibios amenazados, ya que de las 376 especies se estima que 194 están en riesgo de desaparecer (NOM-059-SEMARNAT, 2010; Parra-Olea *et. al.*, 2014).

Por ejemplo, en los bosques mesófilos de Hidalgo, Puebla y Veracruz se reporta susceptible la rana de árbol Poblana (*Plectrohyla characricola*), a causa de la modificación de su hábitat. Otros reportes mencionan casos como el del ajolote (*Ambystoma lermaense*), en el Valle de México, el cual se encuentra seriamente amenazado por el desarrollo urbano. (UICN; Nature Serve, 2017). Es claro que en nuestro país los efectos que tiene la transformación del hábitat sobre especies nativas es poco explorado (Parra- Olea, *et. al.*, 2014). Siendo ésta la primera causa de pérdida de diversidad a nivel mundial, resulta relevante establecer estudios que exploren esta situación en nuestro territorio.

Para el caso de los anfibios, se ha sugerido que las poblaciones más vulnerables serían aquellas que se encuentran sometidas a una rápida transformación del hábitat a causa de actividades humanas, como el cambio de uso de suelo, la desviación de cauces naturales y la variación de temperatura y humedad en diversos ambientes debido a dicha transformación (Blaustein y Kiesecker, 2002; Collins y Storfer, 2003; Beebee y Griffiths, 2005;; Wake y Vredenburg, 2008; Collins y Crump, 2009; Blaustein *et. al.*, 2011).

Entre las prácticas más comunes que deterioran el hábitat en México, excluyendo a la transformación de terrenos rurales en urbanos, son: el cambio de uso de suelo, la tala inmoderada, la apertura de terrenos para la ganadería y agricultura, el desarrollo de infraestructura (por ejemplo, puentes, carreteras y represas), la contaminación y desvío de cauces naturales (SEMARNAT, 2013). A una escala estatal, Oaxaca se caracteriza por contar con gran riqueza natural sin embargo un alto número de especies se encuentran amenazadas por múltiples presiones de las actividades humanas, que deterioran el ambiente (PROFEPA, 2009). El cambio de uso del suelo, la tala inmoderada para venta y combustión, los incendios forestales y el método de roza y quema que realizan los campesinos, para la apertura de áreas para el cultivo, ha provocado que la entidad pierda el 20% de espacios forestales en los últimos 5 años (CONAFOR, 2012).

La tala ilícita es una situación creciente que ha propiciado el establecimiento de aserraderos clandestinos, con maquinaria para procesar la madera que es talada (PROFEPA, 2009). Si consideramos que este mismo estado ocupa el primer lugar a nivel nacional en riqueza de anfibios, resulta imperante realizar estudios que permitan entender las vías en que la transformación de hábitats naturales impactan a los anfibios nativos.

Este trabajo se centra en entender como la transformación del hábitat en Villa de Zaachila, Oaxaca afecta a individuos de la especie *Rhinella marina*. Un anuro que tradicionalmente se consideraba abundante, pero que en los últimos cuatro años ha dejado de observarse en sitios donde en el pasado se consideró común (observación personal). Paralelamente se pretende entender como el aumento de temperatura y los cambios en los patrones de humedad, ocasionados por dicha transformación, afectan o restringen fisiológicamente a los individuos de esta especie. Y finalmente se evaluará una posible interacción entre estos factores con el fin de detectar si la perturbación humana agudiza las variaciones locales en temperatura y humedad poniendo en mayor estrés fisiológico a los individuos de esta especie y causando la posible disminución o extinción local de la misma.

II. Marco teórico

A. Perturbación humana como causa principal en el declive de anfibios.

Diversos estudios han evaluado el efecto de las actividades humanas en las poblaciones de anfibios. Entre las numerosas actividades responsables de la pérdida de anfibios se encuentra la explotación de recursos maderables, el uso de suelo para agricultura y ganadería, la sustracción de especies nativas y la introducción de especies exóticas (Collins y Storfer, 2003; Kats y Ferrer, 2003; Wake y Vredenburg, 2008; Collins y Crump, 2009), el uso de agentes químicos (Blaustein y Kiesecker, 2002) y la desviación de cuerpos de agua por represamiento, el cual es reconocido por su gran impacto al hábitat (Jennings, 1988; Lind *et. al.*, 1996; Tundisi, 1996). Esta última actividad en particular, además de provocar cambios en los afluentes naturales, conlleva a la modificación de la superficie terrestre (Jennings, 1988; Tundisi, 1996). Al igual que muchas otras obras públicas, la construcción de presas tiene importantes beneficios sociales y económicos, como el abastecimiento de agua para el uso humano y suministro de energía (Baxter, 1977). Sin embargo, estos múltiples beneficios que brinda a la gente, no se comparan con el daño que ocasiona al medio ambiente (Laurance y Bierregaar Jr., 1997). Su construcción implica la pérdida de cobertura vegetal, la transformación de suelo y la alteración en los ciclos hidrológicos, modificando la composición y dinámica que siguen estos sistemas de agua, como cambios en la corriente y flujo de nutrientes, además de la química y ph del agua, por mencionar solo algunos efectos (Agostinho *et. al.*, 2008). Además de los daños a los sistemas naturales, las obras de represamiento provocan el aislamiento o fragmentación del hábitat de especies, impidiendo la dispersión, colonización y/o acceso a sitios para la alimentación y reproducción (Laurance y Bierregaar Jr., 1997). Siendo las especies con requerimientos de hábitat específico las más afectadas, en las que se incluye principalmente a especies de macro-invertebrados, peces y anfibios (Lind *et. al.*, 1996).

Estos últimos son considerados como buenos indicadores de la calidad del hábitat, ya que por su biología y sensibilidad a la alteración del mismo responden rápidamente ante los cambios del ambiente (Vitt *et. al.*, 1990). Por ejemplo en California se encontró que el sapo de arroyo (*Bufo microscaphus californicus* o *Anaxyrus californicus*), corre gran riesgo de extinción debido, al aislamiento de sus poblaciones, y al deterioro de su hábitat. Su hábitat incluye arroyos con sustrato arenoso y vegetación que sirven de refugio, así como aguas tranquilas, que han sido modificados por el desarrollo urbano y establecimiento de presas, degradando el hábitat de este sapo hasta en un 40% (Federal Register, 1993).

Otra de las consecuencias del almacenamiento de agua por represamiento es el cambio de las condiciones micro climáticas, ya que funcionan como espejos que reflexionan los rayos del sol, aumentando la temperatura del medio y niveles de evaporación, así mismo contribuye a la emisión de gases de efecto invernadero (dióxido de carbono y metano) por la descomposición de materia orgánica, promueve la proliferación de especies nocivas y modifica la calidad del agua tanto superficial como subterránea a causa de la salinización (www.union.org.mx).

B. Implicaciones fisiológicas

1. Tolerancia térmica

Los anfibios son considerados ectotermos, ya que su temperatura corporal (T_c) está determinada por fuentes externas de calor como el aire, el agua y sustrato o la obtenida de la radiación solar (Duellman y Trueb, 1994; Navas, 1996; Wells, 2007; Wake y Vredenburg, 2008). Al no contar con mecanismo internos para elevar la temperatura corporal y carecer de estructuras morfológicas que ayuden a conservar el calor corporal (Snyder y Weathers, 1975; Hill, 2007; Wells, 2007), dependen de las temperaturas fluctuantes del medio, y de ello la mayoría de sus funciones fisiológicas y conductuales (Wells, 2007). Para que cada función se lleve a cabo se debe mantener una temperatura constante (Snyder y Weathers, 1975; Rome *et. al.*, 1992; Carey y Alexander, 2003; Angilletta *et. al.*, 2002), esto significa que su capacidad para poder llevar a cabo sus actividades diarias se pueden ver limitadas (Wells, 2007). Además de la temperatura ambiental, los rangos de temperatura que puede experimentar un anfibio depende en gran parte por la interacción con el hábitat ocupado, y la hora del día preferida en que se realizan las actividades (Navas, 1996).

Los anfibios tienen un rango de temperatura corporal en el cual pueden efectuar sus actividades cotidianas, este es el rango de tolerancia térmica, por debajo o por encima del cual, se producen alteraciones del funcionamiento fisiológico, es decir cuando la temperatura del organismo excede los límites, más allá del nivel inferior o superior, sufre la aparición de espasmos musculares, siendo incapaz de responder a condiciones que pueden ser letales (Lutterschmidt y Hutchison, 1997; Hillman *et. al.*, 2009). Estos límites se definen como temperatura críticas, de los cuales existe un mínimo térmico crítico (TCMin) y un máximo térmico crítico (TCMax), que describen los rangos de temperatura que un anfibio puede tolerar (Cowles y Bogert, 1944; Angilletta *et. al.*, 2002). Cuando la temperatura ambiental no es la óptima, los anfibios pueden presentar respuestas conductuales para alcanzarla o, en casos extremos, evitar llegar a los límites críticos (Deutsch *et. al.*, 2008). Algunas de estas estrategias son: cambios de postura, permanencia prolongada en refugios, cambio de coloración, restricción de actividad y selección de áreas menos propensas a la desecación (Pough *et. al.*, 1983).

Todos los organismos tienen un periodo de actividad regido por distintos aspectos ambientales como la humedad, temperatura del aire y radiación solar principalmente (Brattstrom, 1979). En anfibios los periodos de actividad están influenciados por la temperatura fluctuante a lo largo del día y la noche, prefiriendo los periodos de alta humedad, asociado a la disponibilidad de agua para rehidratarse, evitando las horas calurosas (Hillman *et. al.*, 2009). Uno de los efectos potenciales de las variaciones del clima es que la fluctuación de temperatura y humedad ambiental se vea tan alterada que la cantidad de horas en que los anfibios pueden realizar sus actividades, se reduzca significativamente, sobre todo cuando el tiempo en que realizan sus actividades aumentan el riesgo a la deshidratación (Hillman *et. al.*, 2009). El aumento de la temperatura, puede dar lugar a un incremento de la temperatura corporal al máximo térmico crítico (TCMax), provocando alteraciones fisiológicas o en un caso extremo la muerte de anfibios (Wygoda, 1984; Bernardo y Spotila, 2006). Los cambios de temperatura corporal en anfibios pueden ser descritos por medio de curvas de rendimiento térmico o curvas de aptitud (Sinervo *et. al.*, 2010; Huey *et. al.*, 2012). En estas curvas se puede conocer los límites de temperatura en las que un organismo puede realizar sus actividades de manera óptima (Cowles y Bogert, 1944; Sinervo *et. al.*, 2010; Huey *et. al.*, 2012).

2. Termorregulación

Los anfibios al igual que otros ectotermos son considerados termo conformistas, como se mencionó la temperatura corporal en anfibios es la variante fisiológica más importante pues está influenciada por la temperatura del ambiente (Snyder y Weathers, 1975; Bernardo y Spotila, 2006; Hill *et. al.*, 2007; Wells, 2007). Las características micro climáticas del hábitat ayudan a mantener una temperatura corporal estable, sin embargo cuando una de estas características se pierde, puede alterar la temperatura corporal en anfibios, siendo forzados a desarrollar estrategias para mantener una temperatura corporal constante, para el buen desempeño metabólico, digestivo, muscular e inmunológico, por mencionar algunos (Hill *et. al.*, 2007; Wells, 2007).

La termorregulación es una respuesta conductual que ayuda a conservar la temperatura del cuerpo estable a pesar de las variaciones ambientales (Snyder y Weathers, 1975; Hill *et. al.*, 2007; Wells, 2007). En anfibios esta capacidad se asocia principalmente a la radiación solar como generador de calor (Angilleta *et. al.*, 2002; Hillman *et. al.*, 2009), y la evapotranspiración como mecanismo de enfriamiento (Hillman *et. al.* 2009). Sin embargo la capacidad de termorregulación en anfibios es limitado, particularmente en aquellas conductas para aumentar la temperatura al asolearse (Hillman *et. al.*, 2009). En contraste con otros ectotermos como los reptiles, los anfibios al carecer de protección en la piel tienen que afrontar la pérdida de agua por evaporación (Brattstrom, 1979). En un estudio se encontró que los beneficios de elevar la temperatura corporal son los mismos tanto para anfibios que para reptiles, beneficios que aumentan la tasa digestiva, el desarrollo y crecimiento. Sin embargo en anfibios el costo de elevar la temperatura del cuerpo es diferente, ya que implica la pérdida de agua (Brattstrom, 1979). Un ejemplo de estas diferencias de termorregulación en anfibios y reptiles, se observó en sapos de *Bufo spinosus*, y lagartijas *Liolaemus multiformis*, ante elevadas fluctuaciones de calor en el ambiente los sapos sufrieron mayor pérdida de agua y peso corporal al asolearse (Pearson y Brandfort, 1976). Demostrando que sólo aquellos anfibios con una fuente confiable de agua y/o elevada humedad ambiental, pueden permitirse incrementar la temperatura corporal (Sievert, 1991).

Debido a la baja resistencia a la pérdida de agua por evaporación que se da a través de la piel, algunos anfibios presentan dificultades para mantener una temperatura corporal preferible (Pearson y Bradford, 1976; Brattstrom, 1979). Por ejemplo los sapos de *Rhinella marina* en condiciones áridas, pueden reducir su temperatura preferida. Tal respuesta ayuda a disminuir la pérdida de agua por evaporación (Malvin y Wood, 1991). En otras especies de anfibios se han observado respuestas más comunes para regular la temperatura y al mismo tiempo reducir la evaporación cutánea, como: cambios de postura, permanencia prolongada en refugios, restricción de actividad y selección de áreas menos propensas a la desecación (Pough *et. al.*, 1983; Hillman *et. al.*, 2009).

A partir de experimentos en situaciones controladas se logra conocer el máximo térmico crítico (TCMax) y mínimo térmico crítico (TCMin), (Cowles y Bogerts, 1944), el cual se ha empleado de manera exitosa para evaluar el desempeño físico de organismos a distintos gradientes de temperatura (incluyendo los límites críticos) y distintos porcentajes de hidratación.

3. Pérdida de Agua por Evaporación (PAE)

Al carecer de barreras en la piel como escamas, plumas, o pelo que eviten la pérdida de agua por evaporación, los anfibios están expuestos al riesgo constante de deshidratación cuando se hallan en tierra (Donnelly y Crump, 1998; Duellman *et.al* 1994; Blaustein y Bancroft, 2007). Ante las limitantes morfológicas y fisiológicas, que minimicen la evaporación cutánea los anfibios son más vulnerables a pequeños cambios de temperatura y humedad en el ambiente (Wygoda, 1984, Wygoda, 1988; Carey *et al.*, 2001). Por lo tanto el costo de estar activos es la constante pérdida de agua a través de la piel (Pearson y Bradford, 1976).

La cantidad de agua perdida por evaporación cutánea dependerá de la especie, el tamaño y sexo del individuo y el hábitat utilizado por el mismo. Además, se encuentra influida por la velocidad del viento, la intensidad de radiación, la humedad, la temperatura del agua y/o sustrato donde se encuentren los organismos (Licht y Bennett, 1972). La influencia de estos factores provoca que varias estrategias de los individuos para minimizar el riesgo a la desecación, se basen en aspectos conductuales (Shoemaker y Nagy, 1977). Por ejemplo, la rana *Smilisca dentata*, se entierra en madrigueras que ella misma cava y se envuelve en un capullo que forma con capas de piel, para evitar la desecación (Ruilba y Hillman, 1981). Otras especies como *Rhinella marina*, se refugian durante el día en periodos de baja humedad, cambian de postura, y son capaces de absorber gran volumen de agua a través de la superficie ventral (Zug y Zug, 1979; Tingley *et. al.*, 2012).

A pesar de que algunos de los anuros cuentan con habilidades para reducir la pérdida de agua, y aunque sus límites de tolerancia térmica sean altos, por ejemplo especies nativas de *Rhinella marina*, la falta de lluvia y humedad en el ambiente son otro factor importante que podría limitar el tiempo y la capacidad de los mismos para desarrollar sus actividades básicas (Zug y Zug, 1979). Por lo cual planteamos que otro de los efectos de las variaciones de temperatura y humedad ambiental sobre esta especie es la reducción de sitios con acceso a agua o áreas con la humedad necesaria para su sobrevivencia.

Para entender como la variación en la temperatura y humedad afectan a los individuos de *Rhinella marina*, se emplearon modelos de agar. A pesar de que el agar no experimenta el movimiento y circulación sanguínea de un anfibio, las tasas de pérdida de agua son similares a las de anfibios vivos, por lo que se han utilizado con gran éxito para evaluar la relación en la pérdida de agua bajo distintas condiciones (Spotila y Berman, 1976; Wygoda, 1984; Navas y Araujo, 2000).

III. Especie en estudio

Rhinella marina (Linnaeus, 1758), pertenece a la familia Bufonidae. Es una especie nativa de América, distribuida desde el Sur de Texas y Oeste de México hasta la parte central de Brasil (Zug y Zug, 1979; Flores, 1993; Alford, 2000). Se alimentan principalmente de artrópodos como insectos, en general son de hábitos nocturnos (Zug y Zug, 1979). Sus patrones de actividad están asociados a las condiciones climáticas y aunque la especie se encuentra activa tanto en época de secas y lluvias el pico de actividad se da en la época de lluvias y es en ésta, cuando ocurre la reproducción. Esta actividad estacional se relaciona con la alta humedad del ambiente y disponibilidad de alimento (Zug y Zug, 1979; Lemos-Espinal, 2001). En contraste, cuando la temperatura es alta y la disponibilidad de agua es limitada como en la época de secas, los sapos restringen la duración de sus actividades y adoptan comportamientos que les permiten mantenerse hidratados como: cambios de postura, permanencia prolongada en refugios (Zug y Zug, 1979; Lemos-Espinal, 2001), disminución de la temperatura corporal (Malvin y Wood, 1991) y mayor absorción de agua a través de la superficie ventral (Zug y Zug, 1979; Tingley *et. al.*, 2012).

Los sapos de *Rhinella marina* presentan un ciclo de vida bifásico acuático (larvas) y terrestre (adulto y pos metamórficos), (Zug y Zug, 1979). Los huevos y larvas son depositados en cuerpos de agua lenta y poco profunda, como charcas, arroyos y embalses, habitando en áreas húmedas como cañadas y bosques (Sexton *et. al.*, 1964; Zug y Zug, 1979). No obstante, es común encontrarlos en hábitats perturbados que les permiten un libre desplazamiento como caminos, zonas de cultivo o pastizales de menor tamaño, así como áreas que se encuentran cerca de asentamientos humanos incluyendo jardines (Sexton *et. al.*, 1964; Zug y Zug, 1979; Heatwole, 1996; Beletsky, 2007).

Existen numerosos trabajos que hablan sobre las poblaciones de *Rhinella marina* como especie invasora, un ejemplo común es el de Australia, no obstante, como especie nativa los estudios enfocados a entender los factores que afectan negativamente a la especie y sus vías de impacto son escasos.

En el país no hay estudios sobre el estado de sus poblaciones, sin embargo, para el caso de Oaxaca parece darse una disminución en el tamaño de sus poblaciones en Villa de Zaachila (Observación personal). Al ser de ciclo bifásico permite dilucidar patrones de uso y preferencia de hábitat y dar respuesta de cómo podría estar afectando la creación de presas agrícolas a especies nativas. Además debido a su abundancia y resistencia a cierto grado de perturbación esta especie permite la obtención de datos que contribuyen a entender como la transformación del hábitat puede afectar a este y otros anfibios nativos. Al ser de ciclo bifásico permite dilucidar patrones de uso y preferencia de hábitat y dar respuesta de cómo podría estar afectando la creación de presas agrícolas a especies nativas.

IV. Hipótesis

1. La transformación del hábitat ocasionada por la conversión de cauces naturales en presas y/o embalses tiene un efecto sobre la presencia y abundancia de individuos de *Rhinella marina* en Villa de Zaachila, Oaxaca, siendo los sitios más alterados aquellos donde la especie se encuentra afectada negativamente.
2. Las variaciones de temperatura y humedad ambiental afectan a las poblaciones de *Rhinella marina* al reducir o modificar el tiempo y sitios óptimos de actividad.
3. La transformación del hábitat y modificación de cuerpos de agua natural, agudizan los efectos negativos de variación de temperatura y humedad ambiental sobre *Rhinella marina* en Villa de Zaachila, Oaxaca.

V. Planteamiento de Problema

Ante la marcada escasez de agua que existe actualmente, las medidas realizadas en distintas zonas de Oaxaca han sido enfocadas a la creación de represas de distinta escala. Estas modificaciones se han realizado con dos fines: almacenamiento de agua para uso humano y para aumentar la filtración a mantos acuíferos. Estas acciones han conllevado a la modificación y desvío de cauces naturales que a su vez representan acciones de degradación del hábitat disponible para fauna nativa. En la mayoría de los casos, la creación de pozos y/o presas, implica la conversión de cuerpos de agua con corriente en cuerpos de agua cerrados con condiciones aparentemente diferentes. Resulta necesario evaluar si dichos cuerpos de agua poseen distintas características y si dichas condiciones afectan a anfibios nativos al provocar la desaparición de sitios óptimos para estos vertebrados.

Por lo anterior nos enfocaremos a evaluar cómo estas modificaciones al hábitat, afectan la presencia y abundancia de sapos de *Rhinella marina* con el fin de detectar diferencias en ocupación entre pozas preexistentes y presas agrícolas de reciente creación. Este estudio pretende determinar si la transformación del área, aunada al establecimiento de presas agrícolas es un factor reciente que influye en la preferencia y/o pérdida de los sitios de uso potencial para anfibios nativos.

VI. Objetivo

Determinar como la transformación del hábitat y variaciones locales de temperatura y humedad afecta a las poblaciones de *Rhinella marina* en Villa de Zaachila, Oaxaca.

Objetivos específicos

- Determinar el impacto de la transformación de cuerpos de agua en presas y/o embalses sobre la presencia y abundancia de individuos de *Rhinella marina*.
- Identificar posibles efectos de variación de temperatura y humedad ambiental en la fisiología de *Rhinella marina*.
- Determinar si las variaciones locales en temperatura y humedad restringen las horas de actividad de *Rhinella marina*.
- Determinar la temperatura crítica mínima y máxima a la que los individuos de *Rhinella marina* muestran alteraciones fisiológicas.
- Determinar si los cambios locales de temperatura y humedad ambiental influyen en la pérdida de agua por evaporación en individuos de *Rhinella marina*.
- Identificar posible aparición de estrategias conductuales y fisiológicas, como respuesta ante variaciones de temperatura y humedad ambiental local.

VII. Metodología

A. Trabajo de Campo

1. Área de estudio

Villa de Zaachila, se localiza en el estado Oaxaca, pertenece al distrito de Zaachila, dentro de la región de Valles Centrales en las coordenadas 16°57'03" Norte y 96°44'57" Oeste. Se encuentra a una altitud de 1,520 metros sobre el nivel del mar y se caracteriza por una orografía accidentada y terreno frágil, con clima templado con lluvias en verano. La temperatura media anual es de 22 °C. Su cauce principal es el río Atoyac (transparencia.zaachila.gob.mx; INEGI, 2007). Su extensión es de 5,486 kilómetros cuadrados de los cuales el 16.76%, son pequeñas porciones de bosque de pino (*Pinus sp.*), encino (*Quercus sp.*), que han sido mermadas por la agricultura la cual ocupa el 40% del terreno y pastizal inducido que a su vez ocupa el 30.45%, y un 12.79% por urbanización de los habitantes. Actualmente el área refleja en gran porcentaje zonas destinadas para el cultivo anual y/o temporal de maíz (*Zea sp.*), frijol (*Phaseolu sp.*), alfalfa (*Medicago sp.*) calabaza (*Curcubita sp.*), jícama (*Pachyrhizus sp.*) y cacahuate (*Arachis sp.*). También se pueden encontrar algunos tipos de cactáceas y agaves, tanto endémicos como introducidos (transparencia.zaachila.gob.mx).

Durante este estudio se trabajó en dos localidades conocidas como “La lobera” y “San Miguel Tlanichico”. Estos sitios se caracterizan por la transformación de sus alrededores en campos de cultivo y pastoreo, siendo las principales actividades productivas de los locatarios (transparencia.zaachila.gob.mx). Se desconoce cuál es la pérdida de vegetación anual a causa de estas prácticas humanas, no obstante durante el estudio de campo se observó una creciente transformación de las zonas de interés y de sus alrededores, debido a la construcción de obras públicas como puentes, al establecimiento de viviendas, la apertura y/o expansión de campos para la agricultura y pastoreo de ganado vacuno y caprino principalmente. Aunado al cambio de uso de suelo, se suma la escasez de agua, resultado del desconocimiento de la gente sobre el uso racional y adecuado para diversas actividades habituales y agrícolas. Esta crisis de agua ha obligado al municipio a iniciar campañas para la creación de pozos y/o presas, sobre ríos o riachuelos que corren por la comunidad, su función principal es la de reservorio en época de sequía.

Estos represamientos y/o pozos son parte un proyecto encabezado por la Comisión Nacional de Agua (CONAGUA) como parte del programa *Conservación y Uso Sustentable de Suelo y Agua* (COUSSA), el cual inicio en 2008 y culminó obras en 2015 (SAGARPA.gob.mx). Sin embargo estas acciones no han solventado del todo esta problemática del agua, ya que la mayoría de los pozos que abastecen a las localidades han disminuido hasta en un 50% de su capacidad, limitando su consumo en algunas partes de la localidad y sobre todo para aquellas actividades ligadas al campo. Ante tal situación los mismos locatarios se han dado a la tarea de cavar pozos sin autorización para cubrir sus necesidades (transparencia.zaachila.gob.mx).

Los muestreos se realizaron durante un año (Septiembre 2016 a 2017), abarcando secas y lluvias. Se consideraron siete cuerpos de agua circundantes a Villa de Zaachila (Fig. 1), tres de los cuales son pozas naturales y cuatro presas agrícolas. Consideramos que la existencia o antigüedad de las tres pozas naturales (hace aproximadamente 16 años), ha permitido que los sapos y cualquier otro organismo en general, se adapten a estas nuevas condiciones. Sin embargo, como esta práctica de transformación de los alrededores va en aumento y están ocurriendo en un periodo de tiempo corto, es probable que muchas especies no se adapten al mismo tiempo en que suceden estos cambios, por consiguiente; resulta necesario evaluar también las diferencias en uso y condiciones de las pozas agrícolas.

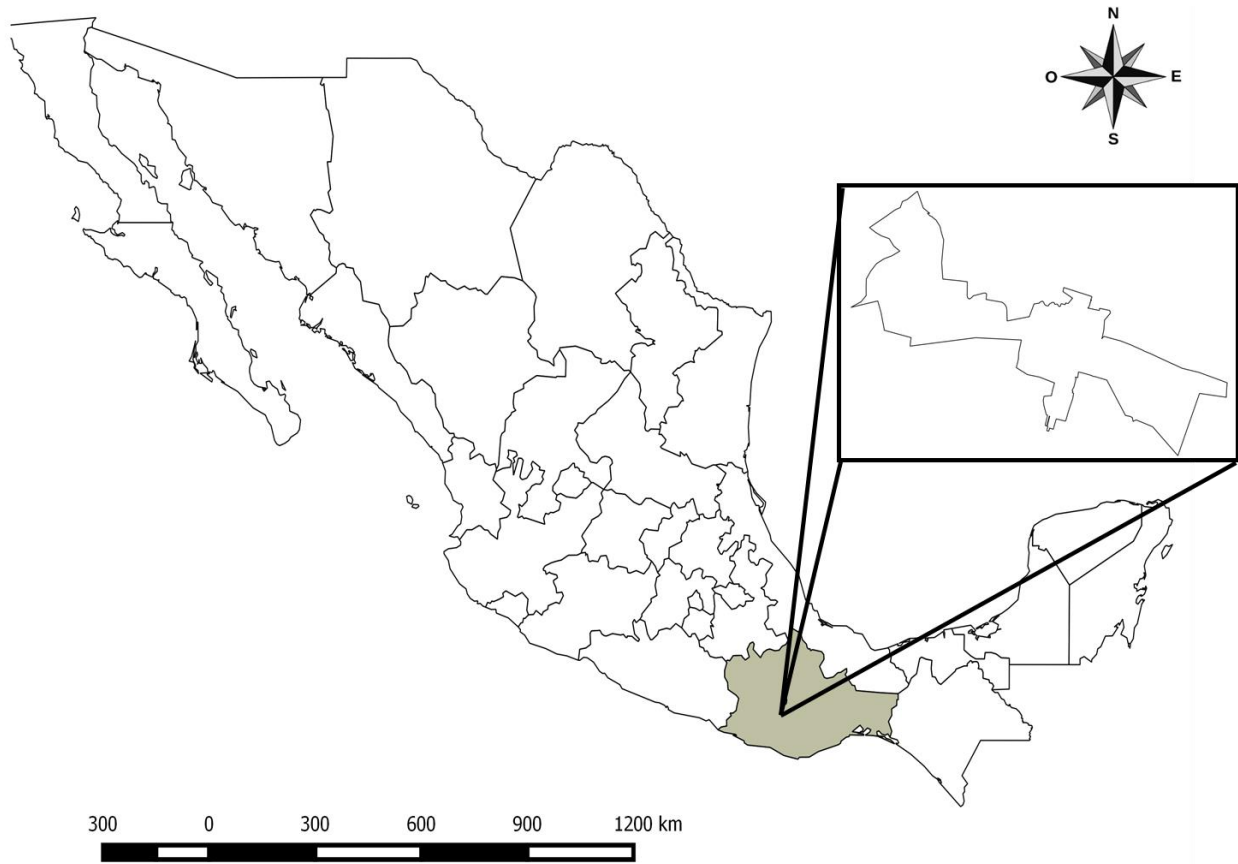


Figura 1. Mapa de Villa de Zaachila. Los muestreos de *Rhinella marina* se llevaron a cabo en cuerpos de agua circundantes a Villa de Zaachila.

Los cuerpos de agua en los que se realizó el estudio son:

Lobera

- Presa Agrícola Principal: Ubicada en uno de los riachuelos que recorren la comunidad, se caracteriza por ser una obra pública de recién establecimiento (2014), cuya finalidad está ligada a las actividades del campo y como reservorio en temporada de estiaje. Presenta contrafuertes de concreto que no superan los 15 metros de altura, entre los cuales pasa el agua deliberadamente, ya que no presenta compuertas (Figura 2).



Figura 2. De izquierda a derecha se observa la Presa agrícola principal y frente de la misma.

- Presa Agrícola Secundaria: Conocida como presa derivadora, debido a que capta el agua proveniente de la Presa Principal, cuya finalidad y fecha de construcción es la misma que su antecesora. A diferencia de la presa principal, se caracteriza por una cortina de concreto que no supera los 10 metros de altura, y compuertas que son operadas manualmente (Figura 3).



Figura 3. A la izquierda se muestra la presa agrícola secundaria con agua y a la derecha al vaciarse por apertura de compuertas.

- Poza Natural, no.1: Conocido como embalse u olla de agua, se ubica corriente arriba de la presa principal. Su fuente principal de agua proviene de la lluvia y/o escurrimientos superficiales de las laderas o lomeríos en los que se halla inmerso. Desde su creación (hace aproximadamente 16 años), ha funcionado como reservorio de agua, para diversos usos (Figura 4).



Figura 4. Poza natural no. 1.

- Poza Natural, no.2: Conocido como olla o embalse de agua, sus características descriptivas, funcionales y de creación son similares a las que describen a la poza natural, no. 1. Su ubicación es a 300 metros de distancia aproximadamente de la Presa agrícola Secundaria (Figura 5).



Figura 5. Poza natural no.2.

San Miguel Tlanichico

- Presa Agrícola, no.1: Producto de un plan emergente para el abastecimiento de agua durante la estación seca, es como surge esta poza agrícola en el 2014. Esta poza se encuentra entre taludes de tierra y un recubrimiento de roca de cantera o río (zampeado seco). En Octubre del año 2016, se llevaron a cabo actividades para la ampliación de dicha poza (comentario directo del operador de la excavadora), en visitas posteriores se observó remoción de sustrato y vegetación. (Figura 6).



Figura 6. Presa agrícola no. 1

- Presa Agrícola, no.2: Paralelamente a la creación de la Poza agrícola, no. 1, surge esta poza. Su apertura tiene como finalidad almacenar agua y para la crianza de tilapia (*Oreochromis* sp.) y charal (*Phoeyla* sp.), (comentario directo de los habitantes y observación personal). Es abastecida por el agua de lluvia, y del escurrimiento de laderas en las que se encuentra inmersa (Figura 7).



Figura 7. Presa agrícola no. 2.

- Poza Natural, no.3: Cabe mencionar, que este es el reservorio de agua más grande de la localidad, cuya importancia reside en el mejoramiento de las condiciones del entorno, al crear pequeños ecosistemas en donde proliferan especies de flora y fauna nativa. Su creación data de hace 12 años aproximadamente, y desde entonces se han conciliado acciones para su conservación. No obstante en las inmediaciones de este estanque, se realizaron obras para la apertura de la presa agrícola no. 1 y 2 (Figura 8).



Figura 8. Poza natural no. 3.

2. Muestreo de individuos de *Rhinella marina*

El muestreo de organismos se llevó a cabo empleando transectos de ancho fijo, a lo largo de los cuales se hizo una búsqueda de individuos siguiendo la técnica de encuentros visuales (Heyer, 1994). Para este estudio se establecieron seis transectos por sitio con una longitud de 50 metros y ancho de 2 metros. Los transectos fueron establecidos perpendicularmente al cuerpo de agua, de tal manera en que incluyeran la mayoría de las características del hábitat. Los muestreos fueron realizados por una persona y en totalidad nocturnos, siguiendo un horario de 18:00 horas poco después del ocaso, hasta las 4:00 horas. El orden de los recorridos se fue alternando de manera aleatoria y el sentido de caminata se alternó desde el punto inicial (0 metros) o final (50 metros).

La captura de organismos fue a mano y con red, previo a la captura se registró la hora, la temperatura y humedad relativa ambiental con termo higrómetro (Lcd- DC105), así como la temperatura corporal del sapo con termómetro infrarrojo (Fluke-62max) y finalmente se hizo una breve descripción de su comportamiento y área de avistamiento. Posteriormente a la captura del sapo se registró la temperatura del sustrato en que fue encontrado, se determinó su estadio (juvenil o adulto) y sexo, adicionalmente se midió la longitud hocico cloaca (LHC) con vernier (Truper) y registró el peso corporal (PESOLA® de 100, 300 y 600 gr). A partir de los residuales obtenidos de la regresión lineal del peso corporal entre tamaño corporal (LHC), se determinó la condición corporal o reserva energética (Cavallini, 1996) de sapos. La fórmula empleada para dicho análisis, se muestra a continuación (Cavallini, 1996):

$$resPC / LC$$

Donde:

res= regresión lineal

PC= Peso Corporal

LC= Longitud corporal (LHC)

Con el fin de evitar duplicar información del mismo organismo, durante los muestreos, los organismos eran contenidos en bolsas de manta, una vez terminado el recorrido en dicho sitio eran liberados en el lugar de encuentro. Todos los datos fueron registrados por la misma persona.

3. Caracterización del hábitat

Con el fin de entender si existen diferencias entre las presas agrícolas y las pozas "naturales", se tomaron datos de las siguientes características tanto en época de secas como de lluvias.

- **Firmeza del suelo.-** Para determinar la suavidad o firmeza del suelo se utilizó un cincel, con longitud y peso conocido (30cm - 310gr). El cincel se dejó caer a una altura de 1 metro (m), con ayuda de una regla de madera se mantuvo constancia de dicha altura. Una vez introducido el cincel en el sustrato era medido con vernier la porción penetrada en el suelo. Los muestreos de firmeza se realizaron en cada uno de los transectos, obteniendo un total de seis mediciones por sitio estudiado.
- **Distancia a caminos y asentamientos humanos.-** La distancia a estructuras de uso humano relativamente cercanas, se midió con flexómetro (Truper). Para aquellos caminos o asentamientos, a mayores distancias se utilizaron imágenes satelitales en el software Arcgis 10.1 (Esri, 2012).
- **Disponibilidad de Alimento.-** Para evaluar la disponibilidad de alimento en cada sitio, se usó el método de trampas de caída "pitfall", descritas en (Lobo, *et. al.*, 1988), al cual se le hicieron modificaciones para fines de este estudio. Se emplearon cinco envases plásticos de (1lt) por transecto, lo cual dio un total de treinta envases por cuerpo de agua. Los recipientes fueron colocados a un metro de distancia uno de otro. En cada uno de los envases se vertió shampoo con el fin de contener los artrópodos que cayeran en la trampa. Posteriormente los ejemplares colectados se mantuvieron en frascos de vidrio en alcohol al 70%. El número de individuos capturados se utilizó como una medida indirecta de la disponibilidad de alimento por sitio.

- Pendiente.- Las inclinaciones de lomeríos y/o laderas circundantes a los cuerpos de agua, se midieron con un clinómetro (Brunton).
- Profundidad del cuerpo de agua.- Empleando una regla de madera de cien centímetros, se midió la profundidad del cuerpo de agua a dos distancias de la orilla: La primer distancia fue de 64 cm y la segunda de 1.22 cm, para esta última medición fue necesario emplear un soporte de madera para lograr la toma de datos. Se registraron dos mediciones por transecto, siendo un total de doce medidas por sitio.
- Vegetación.- Se consideraron dos estratos vegetales, herbáceos y arbustivos. Cabe mencionar que el estrato arbóreo fue excluido del estudio debido a que el tamaño de muestra no fue representativo para hacer una comparación entre sitios, de los cuales sólo en poza natural no. 3, se contabilizaron tres individuos.

Para estimar la densidad de herbáceas y arbustos se hicieron las siguientes mediciones:

- Densidad de arbustos.- El método empleado constituye una modificación del método de unidades de muestreo y líneas o transectos (Elzinga, 1998; CONAFOR, 2011). Se emplearon las mismas líneas o transectos de 50 metros, preestablecidos para los muestreos de sapos. Paralelamente a esta línea o transecto se definieron tres unidades muestrales, es decir sobre el transecto de 50 metros se definió a los 10m la primer unidad de muestro, a los 25m la segunda y finalmente a los 50m la última unidad. Cada unidad se compone de dos círculos, es decir, el primer círculo es de 4m de circunferencia y sólo se consideran arbustos con diámetro leñoso ≥ 5 cm, el segundo círculo es de 8m de circunferencia en los que se incluyen arbustos con diámetro leñoso ≥ 10 cm (Fig.9). Los diámetros fueron medidos con cinta métrica (Truper). Posteriormente a la toma de datos, se estimó la densidad de arbustos con la siguiente ecuación:

$$D = \frac{n}{um (\pi r^2)}$$

Donde:

D= densidad de arbustos

n= Σ No. Individuos

um= Número de unidades de muestreo

r= Radio del área de muestreo

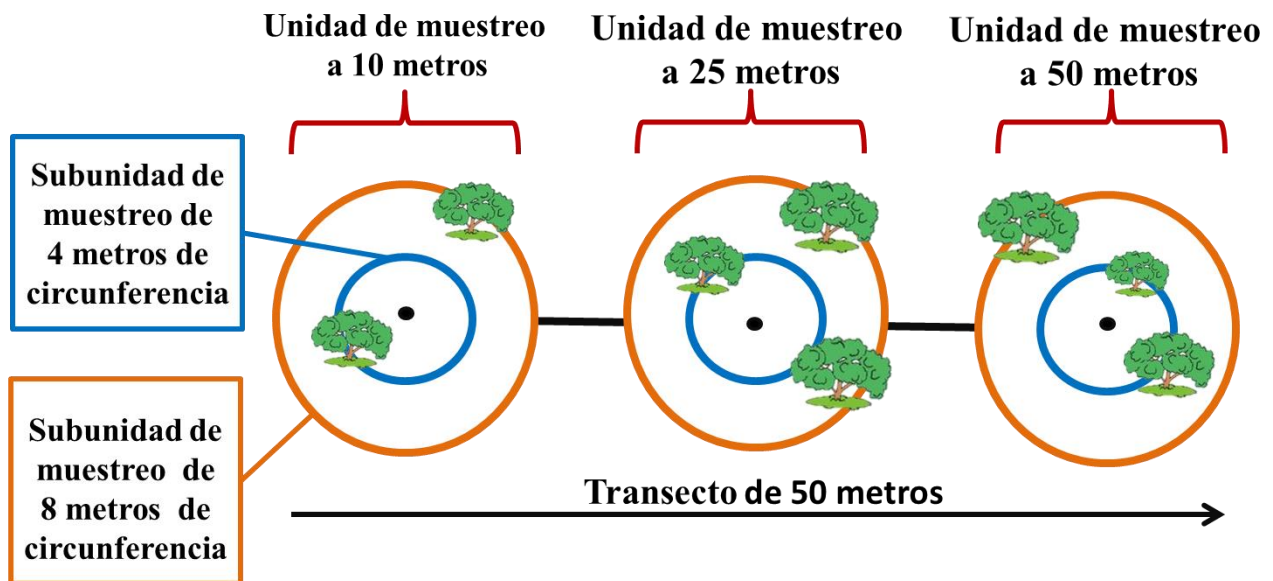


Figura 9. Esquema del método utilizado para estimar la densidad de arbustos. Dentro de la subunidad de 4 m (círculo azul) se contabilizaron arbustos con leño ≥ 5 cm y en la subunidad de 8 m de circunferencia (círculo anaranjado) se contabilizaron arbustos con leño ≥ 10 cm.

- Densidad de herbáceas.- Se empleó el método de cuadrantes descrito (Elzinga, 1998). En cada uno de los cuerpos de agua se establecieron seis transectos como unidades de muestreo de 50m de longitud, a lo largo estos transectos se establecieron puntos de muestreo a los 0, 10, 20, 30, 40 y 50 metros, para ser un total de seis unidades por transecto. Los transectos fueron recorridos a pie, al llegar al punto o unidad muestral se arrojó un cuadro de PVC de 1 m² se hicieron dos mediciones, una por extremo (izquierdo y derecho). Posteriormente se hicieron estimaciones visuales de la proporción de área ocupada por herbáceas dentro del cuadrante, de acuerdo a los esquemas revisados en (Kent & Coker 1992). La información se utilizó para estimar el porcentaje de superficie cubierta por herbáceas, adicionalmente se evaluó la proporción de suelo y roca, como una inferencia del deterioro del suelo. Para estimar el porcentaje de cobertura se empleó la siguiente formula:

$$\% \text{ de superficie cubierta} = \Sigma (\% \text{ superficie cubierta} / \# \text{ de puntos registrados})$$

4. Aspectos fisiológicos

4.1 Determinación de Pérdida de Agua por Evaporación (PAE) empleando modelos de agar.

Con el fin de lograr modelos con forma y tamaño corporal real, se elaboraron moldes de látex, siguiendo el *Protocolo para la elaboración de modelos de agar para experimentos de ecofisiología en anfibios*. Para este estudio se emplearon ejemplares de *Rhinella marina* sin datos, donados de la colección de anfibios y reptiles del CIIDIR Oaxaca y UAM-Iztapalapa.

Una vez que se tenían los moldes de látex fue necesario definir la concentración de agar (BIOXON - agar bacteriológico), empleada en los modelos, para esto se hicieron pruebas de deshidratación en organismos vivos (adultos y juveniles) y modelos de agar a diferentes concentraciones (2gr-98ml, 3gr-97ml, 4gr-96ml y 4.7gr-100ml), los cuales fueron contenidos en recipientes plásticos y colocados frente al ventilador. La concentración se definió evaluando el porcentaje de deshidratación (peso perdido) en función del tiempo (hora), determinando así la concentración de agar que mejor asemeja la pérdida de agua de los organismos vivos. La concentración empleada en el estudio fue de 2% (2gr de agar por cada 98 ml de agua caliente). Para lograr un color lo más similar a individuos vivos, el agar se mezcló con tintura vegetal color café en un vaso precipitado de 1000 mililitros. Una vez obtenida la mezcla, ésta se vertió en los moldes de látex previamente elaborados y se refrigeraron para su solidificación. Una vez sólido, cada modelo fue desmoldado y mantenido en recipientes con agua, y en refrigeración con el fin de mantener el nivel de hidratación máximo hasta colocarlos en los sitios a evaluar en campo.

Las pruebas de (PAE) se hicieron en ambas estaciones, siendo 56 modelos de adultos y juveniles, para dar un total de 112 modelos. Se colocaron ocho modelos de agar (4 adultos y 4 juveniles; Anexo 1) por sitio, sumando un total de 56 modelos por estación, los cuales fueron colocados de acuerdo a los siguientes tratamientos:

- Adulto y Juvenil #1, expuesto al sol y en sustrato húmedo (Anexo 1).
- Adulto y Juvenil #2, expuesto al sol y en sustrato seco (Anexo 1).
- Adulto y Juvenil #3, colocado a la sombra y en sustrato húmedo.
- Adulto y Juvenil #4, colocado a la sombra y en sustrato seco (Anexo 1).

La colocación de los modelos se hizo con base en lo observado en campo, considerando aquellos lugares en donde los sapos de *Rhinella marina* fueron observados y/o de uso cotidiano, como al borde del cuerpo de agua, o espacios que sirven de refugio.

Previo a la colocación de los agares, fueron programados 28 registradores automáticos de dos canales (Hobo ProV2) y 14 registradores automáticos de temperatura y humedad ambiental (Hobo ProV2) con el software HOBOWare (www.onsetcomp.com), para tomar datos cada 5 horas. Cada uno de los canales fue insertado cuidadosamente al modelo para el registro de la temperatura del mismo. Paralelamente se colocaron dos registradores de temperatura y humedad ambiental por cuerpo de agua, es decir, uno al sol y otro a la sombra.

Para determinar la tasa de deshidratación de cada modelo, éstos fueron pesados cada 5 horas en una báscula digital (Ohaus) portátil de pilas AA. Las pruebas para evaluar la pérdida de agua en la zona de estudio duro 24 horas, simulando un día de actividad en la que los sapos se mantienen activos. En total se registraron seis mediciones por modelo, con estos datos se estimó la pérdida de agua inferida por el cambio en peso de cada modelo por periodo de tiempo, para ello se empleó la siguiente formula:

$$Pd = \frac{(Pi - Pf) * (100)}{Pi}$$

Donde:

Pd= Porcentaje de deshidratación (%)

Pi= Peso inicial

Pf= Peso final

*El valor de 100 es considerado como el máximo nivel de hidratación, es decir el 100%.

Es importante señalar que para estimar el porcentaje de agua perdido a diferentes intervalos de tiempo, el peso final (Pf) se considera el peso registrado después de cierto tiempo, por ejemplo si se desea conocer la pérdida de agua después de 15 horas, se considera como (Pf), el peso registrado en este intervalo de tiempo.

Trabajo de Laboratorio

1. Aspectos Fisiológicos

1.1 Determinación de Tolerancia Térmica: Temperatura Crítica Máxima (TCMax) y Temperatura Crítica Mínima (TCMin).

Para determinar la tolerancia térmica nos basamos en el método dinámico, máximo térmico crítico (TCMax) y mínimo térmico crítico (TCMin), (Cowles y Bogerts, 1944). Para ello, se colectaron individuos adultos de *Rhinella marina*, en los sitios descritos, posteriormente fueron llevados al laboratorio para realizar las pruebas de desempeño físico doce horas después de su captura a diferentes temperaturas y porcentaje de hidratación.

Las pruebas de desempeño físico se llevaron a cabo en una habitación con aire acondicionado (Hisense), que en conjunto con un calentador electrónico (Home Line) se emplearon para alcanzar las temperaturas de prueba. Las temperaturas estudiadas en dicha habitación fueron cinco: 13, 18, 23, 28 y 33 °C. Estas temperaturas se seleccionaron con base en las temperaturas registradas en campo con termo higrómetro (Lcd- DC105). Los porcentajes de hidratación evaluados fueron: 80, 90 y 100%. Para lograr cada nivel de hidratación cada individuo se hidrato previamente al 100%. Este porcentaje se determina cuando el individuo alcanza un peso máximo y deja de ganar peso. Una vez hidratados al 100 % cada organismo se expuso al aire proveniente de un ventilador hasta alcanzar el peso esperado para el porcentaje de hidratación requerido, calculado a partir del peso alcanzado al 100% de hidratación. Para evitar que el nivel de alimentación (hambre) individual influyera en el desempeño, antes de las pruebas los sapos fueron alimentados con grillos (*Acheta domesticus*) y tenebrios (*Tenebrio molitor*). Después de terminar la prueba cada organismo tuvo acceso a agua y comida.

Para evaluar el desempeño se estimuló a cada individuo a desplazarse alrededor de una pista de pruebas construida con madera. Los sapos fueron estimulados a moverse con un palo de madera, cada vez que el organismo se detenía era estimulado suavemente (sin causar estrés) hasta alcanzar el tiempo máximo de desempeño, lo cual fue interpretado como la negación de movilidad por parte del sapo. El tiempo en espera del andar del sapo fue de tres minutos, al transcurrir ese lapso de tiempo se consideraba que el individuo había alcanzado su máximo desempeño. Simultáneamente con cronómetro (kadizz) se registró el tiempo de desempeño de cada sapo.

Con los datos obtenidos a través de esta prueba se obtuvo información sobre los tiempos de actividad a distintas temperaturas y su relación con el nivel de hidratación, lo cual fue comparado con la información obtenida en campo, en específico las temperaturas disponibles y las tasas de deshidratación de los modelos de agar.

2. Determinación de temperaturas ambientales históricas (1995-2014)

Adicionalmente a las temperaturas registradas en campo con termo higrómetro (Lcd- DC105), en el laboratorio de Sistemas de Información Geográfica (SIG) del CIIDIR Oaxaca se determinaron las temperaturas ambientales en cada sitio abarcando un periodo de veinte años. Mediante el uso de imágenes satelitales Landsat 4-8 (<https://glovis.usgs.gov>), con una resolución de 240m y la georreferencia de cada sitio previamente registrada con GPS (Garmin eTrex 10), se estimaron las temperaturas ambientales locales por medio del software ENVI versión 5.1 (Esri, 2014). Se procesaron un total de doscientas cuarenta imágenes, para el periodo de 1995 a 2014. Para el análisis de los datos, se establecieron intervalos de cinco años (1995-1999; 2000 – 2004; 2005 – 2009; 2010-2014).

3. Análisis estadístico

Para determinar las variables que guardan una relación entre sí, y que al agruparse expliquen las posibles diferencias entre tipo de poza y/o presa, se realizó un análisis de componentes principales (ACP), empleando el software estadístico Past versión 3.18. Adicionalmente se utilizó el software SPSS versión 20 para realizar las pruebas de normalidad de los datos y pruebas no paramétricas de χ^2 para determinar la presencia, uso de microhábitat y comportamiento de individuos entre pozas naturales vs presas agrícolas. Además se empleó el test de Kruskal-Wallis para observar diferencias significativas entre pozas naturales y presas agrícolas, y determinar diferencias en los experimentos de pérdida de agua por evaporación, rendimiento físico y temperaturas ambientales históricas. Paralelamente con el coeficiente de correlación de Spearman se determinó la asociación entre variables muestreadas por sitio, y prueba de U de Mann – Whitney para determinar diferencias en los gradientes térmicos a los que fueron sometidos los individuos durante las pruebas de rendimiento físico. Finalmente para estimar la condición corporal de individuos, se realizó un análisis de regresión lineal.

VIII. Resultados

1. Características del hábitat

El análisis de componentes principales (ACP) muestra que los dos primeros componentes explican 73.3% de la variación observada en el espacio multivariado. En el biplot hecho con ejes CP1 y CP2 se observa en la Figura.10 que cuatro de los sitios poza natural, no.1, 2, 3 y presa agrícola, no.2 se diferencian por su posición en el CP1 en los cuadrantes con valores positivos, señalando que éstos presentan suelos suaves y menor profundidad del cuerpo de agua, mientras que existen tres cuerpos de agua (presa agrícola no.1, presa principal y secundaria) con características opuestas, es decir con suelos más duros y con mayor profundidad de agua. El eje CP2 es el que mejor define la ubicación de las pozas naturales vs. presas agrícolas. Las tres pozas naturales caen en los cuadrantes positivos, esto indica que presentan mayor densidad de herbáceas y arbustos, y además se encuentran más alejados de asentamientos humanos. En contraste las cuatro presas agrícolas presentan menor densidad tanto de herbáceas como arbustos y se encuentran más cercanos a asentamientos humanos, los casos más notables son presa agrícola principal seguida de la presa agrícola secundaria. Esto significa que las pozas naturales muestran mayor cantidad de alimento y menos suelos desnudos en contraste a las presas agrícolas.

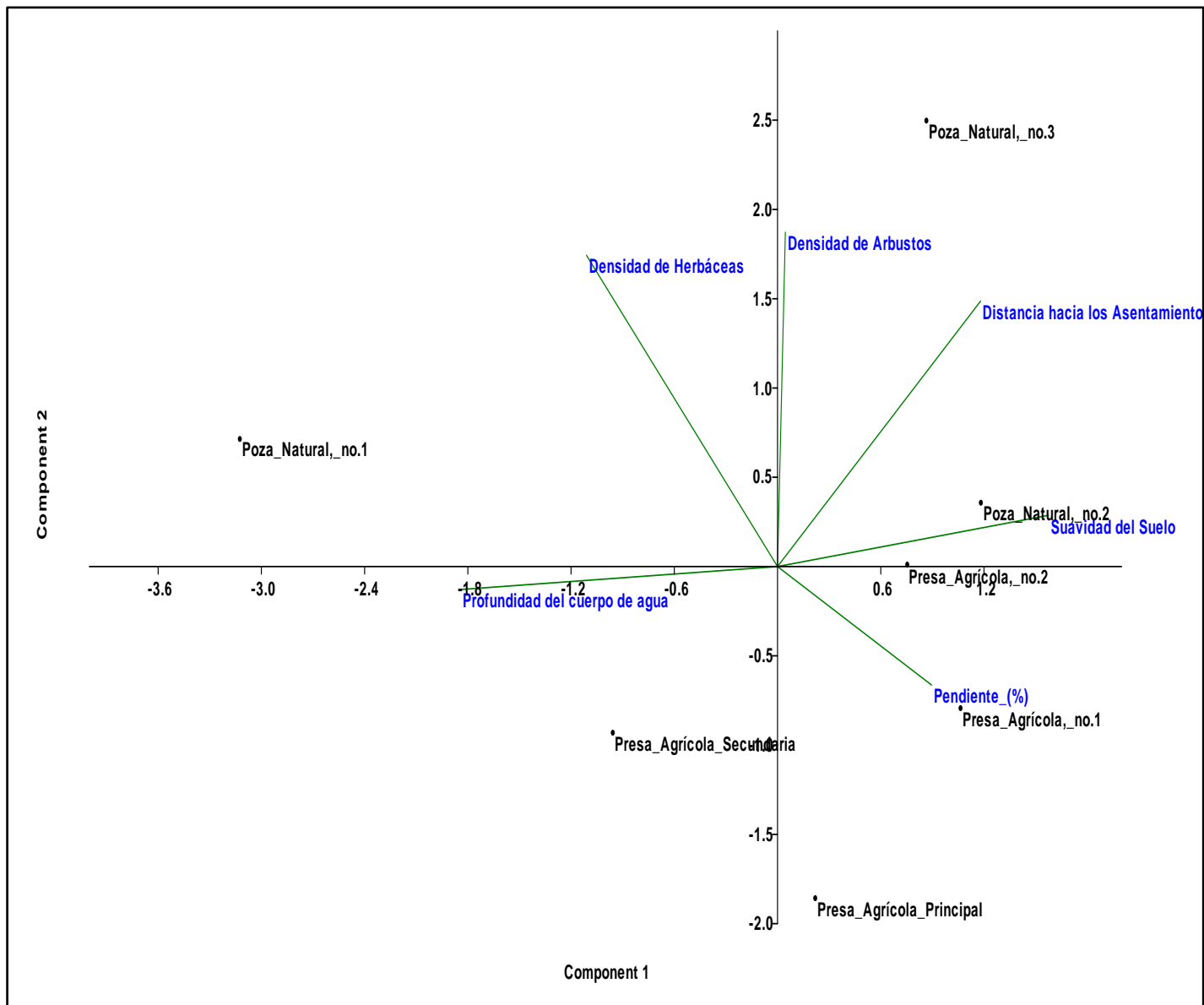


Figura 10. Biplot, componente 1 (eje x), contiene las variables de profundidad del cuerpo de agua y suavidad del suelo, componente 2 (eje y), contiene las variables de distancia de asentamientos humanos y densidad de herbáceas y arbustos.

En la Tabla 1 se muestra que en el primer componente dominan dos variables (profundidad del cuerpo de agua con valor negativo y suavidad del suelo con valor positivo), mientras en el segundo componente tres variables (distancia a asentamientos humanos, densidad de herbáceas y densidad de arbustos, los tres con valores positivos). Paralelamente con la correlación de Spearman se determinó que la densidad de herbáceas y arbustos están correlacionadas negativamente con el suelo (herbáceas, $\rho = -0.908$; arbustos, $\rho = -0.341$, $P \geq 0.1$), y una correlación positiva entre densidad de arbustos y disponibilidad de alimento ($\rho = 0.319$, $P \geq 0.1$), es decir que entre más densidad de herbáceas y arbustos, menor proporción de suelo desnudo y mayor disponibilidad de alimento.

Variables del hábitat	PC 1	PC 2	PC 3	PC 4	PC 5	PC 6
Profundidad del cuerpo de agua (cm)	-0.60	-0.042	-0.10	0.45	0.39	0.50
Suavidad del Suelo (cm)	0.51	0.094	-0.29	0.77	-0.19	0.01
Pendiente (%)	0.29	-0.21	0.77	0.23	0.45	-0.08
Distancia de Asentamientos Humanos (m)	0.38	0.48	-0.29	-0.26	0.65	0.17
Densidad de Herbáceas	-0.36	0.57	0.084	0.24	0.10	-0.67
Densidad de Arbustos	0.014	0.61	0.46	-0.016	-0.39	0.49
Porcentaje de explicación por componente (%)	40.49	32.83	18.33	6.54	1.72	0.061

Tabla 1. Valores absolutos de variables muestreadas en cada sitio. Primer componente agrupa sitios menos superficiales y mayor con firmeza del suelo. Segundo componente sitios más lejanos de asentamientos humanos y con mayor densidad de vegetación. Los primeros dos componentes en conjunto explican el 73.3% de la información proyectada en el biplot.

La prueba de Kruskal-Wallis, muestra diferencias significativas entre pozas naturales vs. presas agrícolas, donde la densidad de herbáceas ($H_{(1,42)} = 13.396$; $P < 0.000$) y lejanía de asentamientos humanos es mayor en pozas naturales ($H_{(1,42)} = 7.535$, $P < 0.006$). Además de presentar mayor disponibilidad de alimento que las presas agrícolas $H_{(1,42)} = 6.732$; $P < 0.009$, (Fig. 11), siendo la estación húmeda donde mayor cantidad de alimento se registró ($H_{(1,36)} = 13.965$; $P < 0.000$), esta tendencia también se observó en presas agrícolas, mostrando diferencias significativas entre estaciones, en la cual, la disponibilidad de alimento fue significativamente mayor durante las lluvias ($H_{(1,48)} = 13.372$; $P < 0.000$).

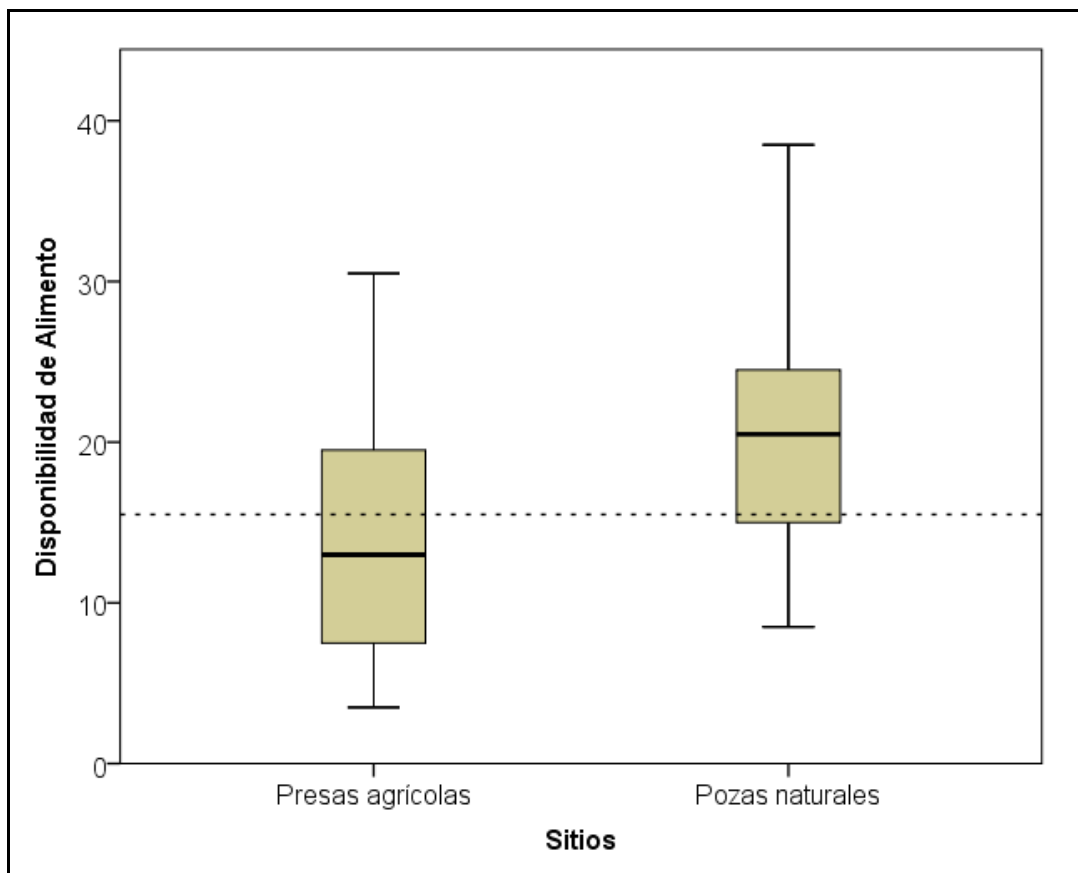


Figura 11. Disponibilidad de alimento en presas agrícolas vs pozas naturales. La línea punteada hace referencia a la media global en la disponibilidad de alimento en ambos sitios. Observamos que el grafico de caja y bigotes de pozas naturales se desplaza hacia arriba, lo que indica que las pozas naturales disponen de más alimento en contraste con las presas agrícolas.

Adicionalmente a los estudios para la caracterización del hábitat, se determinó la temperatura fluctuante y del sustrato, así como el porcentaje de humedad ambiental para los sitios de interés. Los resultados de este estudio revelan que la temperatura ambiental ($H_{(1,405)}=1.449$; $P > 0.229$) y del sustrato ($H_{(1,405)}= 0.013$; $P > 0.908$) no variaron entre sitios. Sin embargo, las pozas naturales presentaron 62.1% más humedad relativa que presas agrícolas con 37.8 %, de manera que las pozas naturales muestran una tendencia a la significancia, como más húmedos que las presas agrícolas ($H_{(1,405)}= 1.493$; $P < 0.017$).

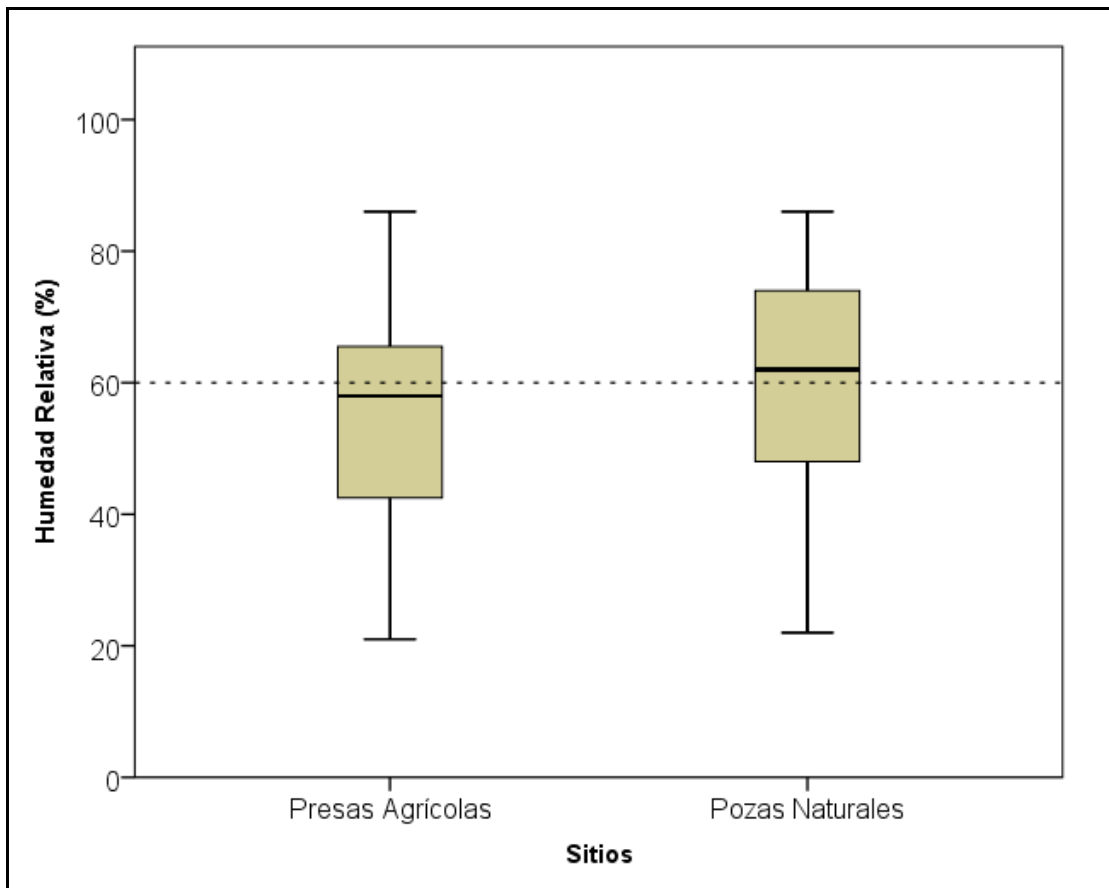


Figura 12. Humedad relativa ambiental (%) de presas agrícolas vs. pozas naturales. La línea punteada muestra la media global de humedad relativa ambiental (%) en ambos sitios. A pesar de no ser tan evidente la diferencia de medias en el segundo cuartil de las gráficas de caja y bigote, se observa el desplazamiento hacia arriba de pozas naturales, mostrando una tendencia significativa en comparación a las presas agrícolas.

2. Muestreos de individuos de *Rhinella marina*

Un total de 405 individuos de *Rhinella marina* fueron estudiados, de los cuales el 267 se observaron en pozas naturales y 138 en presas agrícolas (Fig. 13). Del total de los conteos el 65.9% corresponde a lo observado en pozas naturales, de manera que la presencia de sapos fue significativamente mayor en sitios naturales ($\chi^2_{(1,405)} = 75.207$; $P < 0.0001$), inclusive al analizar los datos por estación se encontró que los sapos son más abundantes en las pozas naturales, siendo la temporada húmeda la que presenta más individuos registrados ($\chi^2_{(1,405)} = 8.022$; $P < 0.005$), donde el 57% corresponde a lo contabilizado en pozas naturales y 42.9% a presas agrícolas.

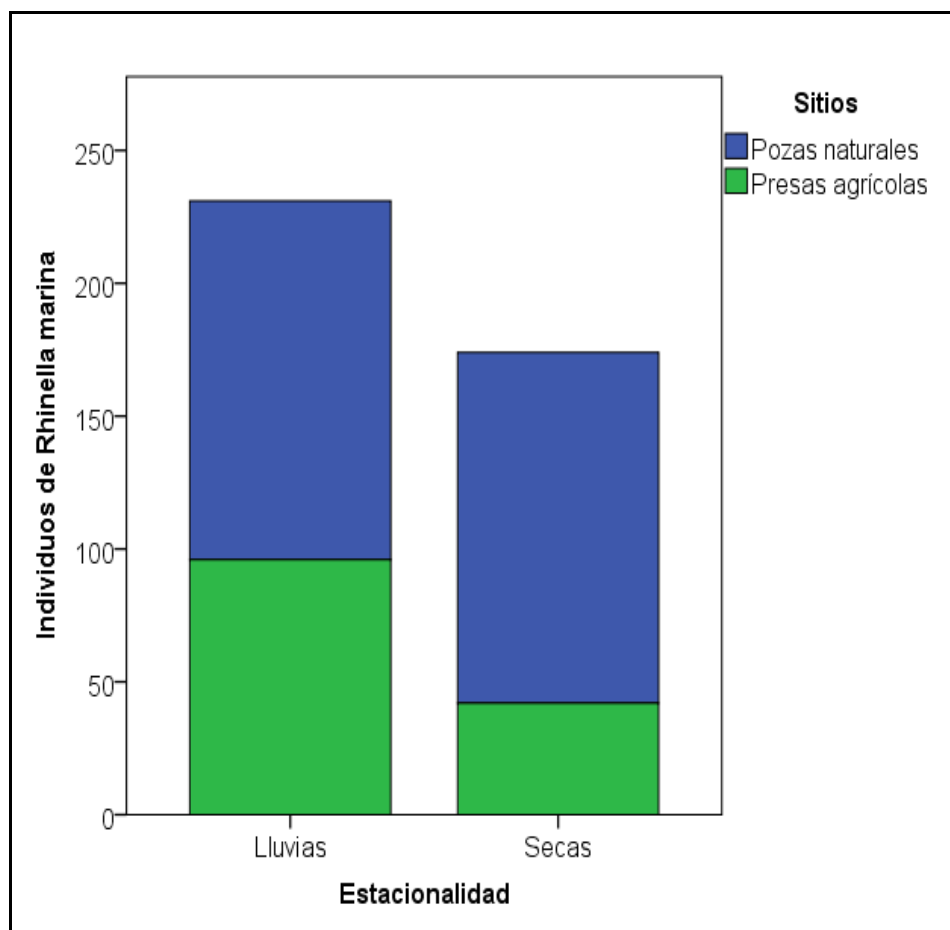


Figura 13. Presencia de *Rhinella marina*. En el eje y se observa el número de individuos, mientras que en el eje x hace referencia a la estacionalidad. En azul se expresan las pozas naturales y en verde las presas agrícolas.

Al contrastar la presencia de individuos entre estadios (adultos y juveniles), y entre sexos (hembras y machos), se detectó que los juveniles, en contraste con los organismos adultos, ocupan mayormente las presas agrícolas 59.6% y en menor proporción las pozas naturales 40.3%, mostrando diferencias significativas entre sitios ($\chi^2_{(1,109)}= 18.530094$; $P < 0.0001$). El mayor número de juveniles se observó durante la temporada seca con 61.4% y en menor medida en temporada de lluvia 38.5%, siendo menos frecuentes en los cuerpos de agua durante la estación húmeda ($\chi^2_{(1,109)}= 18.484563$; $P < 0.008$).

En el caso de los adultos se determinó que la presencia de los mismos varía significativamente ($\chi^2_{(1,296)}= 22.716$; $P < 0.000$) con el cambio de estación, siendo más frecuentes en lluvias con 63.8%, mientras que en la estación seca fue de 36.1%. No obstante, al comparar entre sexos se encontró que la ocupación es distinta ($\chi^2_{(1,296)}=22.716$; $P < 0.000$), ya que hay más machos que hembras en ambas estaciones (Fig.14), siendo más numerosos durante la estación húmeda 61.1%. Sin embargo, el análisis entre sitios indica que tanto machos como hembras ocupan más las pozas naturales ($\chi^2_{(1,296)}=109.459$; $P < 0.0001$).

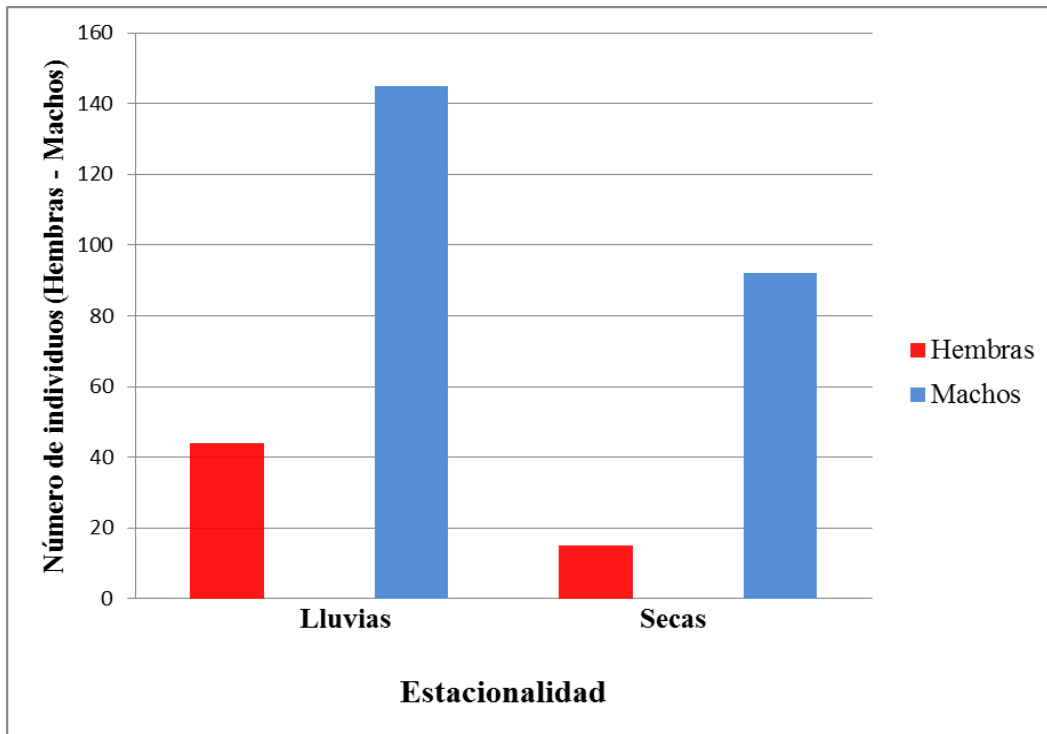


Figura 14. Presencia de adultos de *Rhinella marina* (hembras y machos) en ambas estaciones (lluvias y secas). En azul se muestra el número de sapos machos y en rojo el de hembras. Las barras indican que los machos son más frecuentes que las hembras, tanto en la estación humedad como seca.

a. Condición corporal

La condición corporal de *Rhinella marina*, fue determinada a partir de los residuales de la regresión del tamaño (longitud hocico cloaca – LHC) y peso corporal. Los resultados de este estudio revelan que las hembras provenientes de las pozas naturales tienen mejor condición corporal que las hembras de las presas agrícolas $H_{(1,59)} = 4.420$; $P < 0.036$, (Fig. 15), a pesar de esta diferencia entre sitios, al comparar la condición corporal de hembras entre estaciones no se detectaron diferencias significativas ($H_{(1,59)} = 1.320$; $P > 0.251$). En cambio los resultados de machos revelan que la condición corporal de los mismos se diferencia significativa entre estaciones ($H_{(1,237)} = 4.223$; $P < 0.040$), siendo la estación húmeda donde mejor condición corporal tienen, no obstante al contrastar la condición corporal entre sitios no se evidenciaron diferencias significativas ($H_{(1,237)} = 6.189$; $P > 0.13$). Paralelamente a este estudio se determinó que la longitud corporal (LHC) de sapos adultos no muestra diferencias significativas ($H_{(1,296)} = 2.517$; $P > 0.11$) al contrastar entre sitios. Esta tendencia también se detectó a partir de comparar la condición corporal entre machos y hembras, los cuales no muestran diferencias significativas ($H_{(1,296)} = 0.233$; $P > 0.62$).

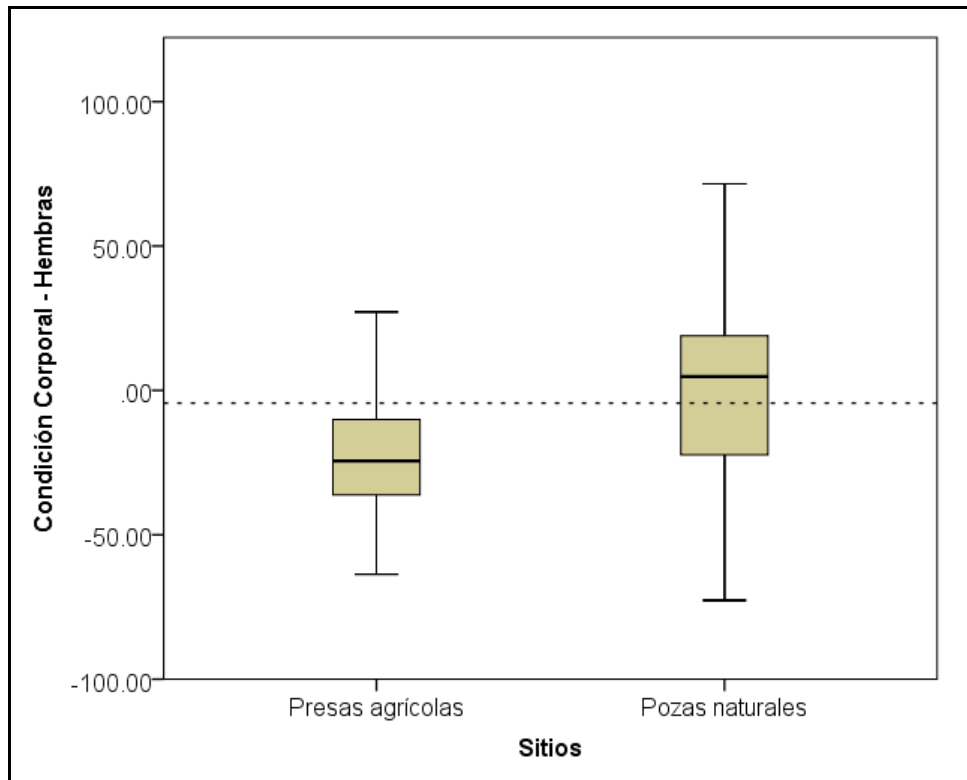


Figura 15. Condición corporal en hembras de *Rhinella marina*, en pozas naturales vs. presas agrícolas. La condición corporal media de hembras en pozas naturales es mayor que en presas agrícolas. Por tal se observa un desplazamiento del gráfico de caja y bigotes hacia arriba.

Contrariamente a lo observado en hembras, los juveniles presentan una tendencia cercana a la significancia, al contar con mejor condición corporal en las presas agrícolas $H_{(1, 109)}=355.592$; $P= 0.05$, (Fig. 16). Al comparar entre estaciones, se detectó que los juveniles muestran mejor condición corporal durante las lluvias ($H_{(1, 109)}=1151.19$; $P < 0.0012$).

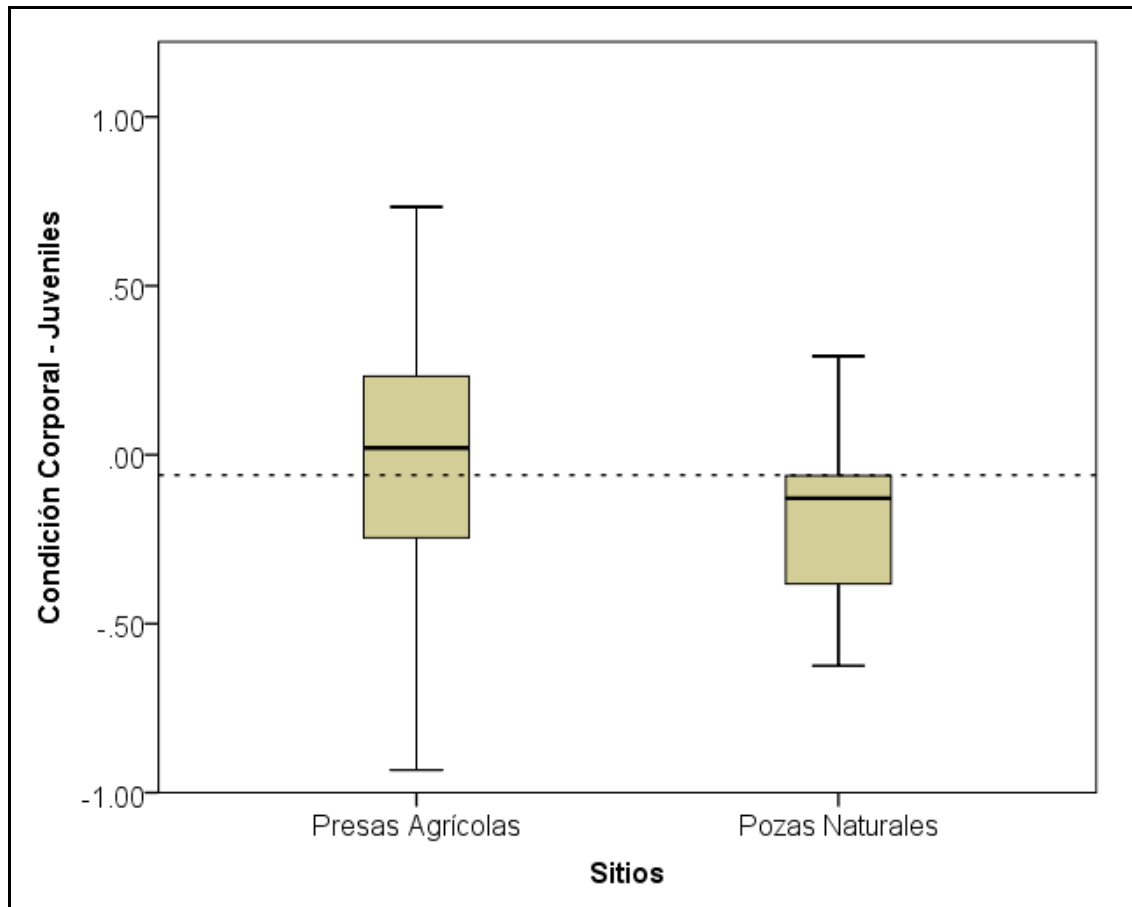


Figura 16. Condición corporal en juveniles de *Rhinella marina*, en pozas naturales vs. presas agrícolas. La condición corporal media de juveniles en presas agrícolas es significativamente mayor a lo observado en el gráfico de caja y bigotes de pozas naturales.

b. Temperatura Corporal

La temperatura corporal registrada en campo de *Rhinella marina* no mostró diferencias significativas entre sitios ($H_{(1, 405)}=0.137$; $P > 0.71$). Sin embargo al comparar la temperatura corporal entre adultos y juveniles, se observó que los adultos muestran una media significativamente mayor ($H_{(1, 405)}= 56.542.635$; $P < 0.000$), a la de los juveniles (Fig. 17), pero similar entre hembras y machos ($H_{(1, 296)}= 1.188$; $P > 0.276$).

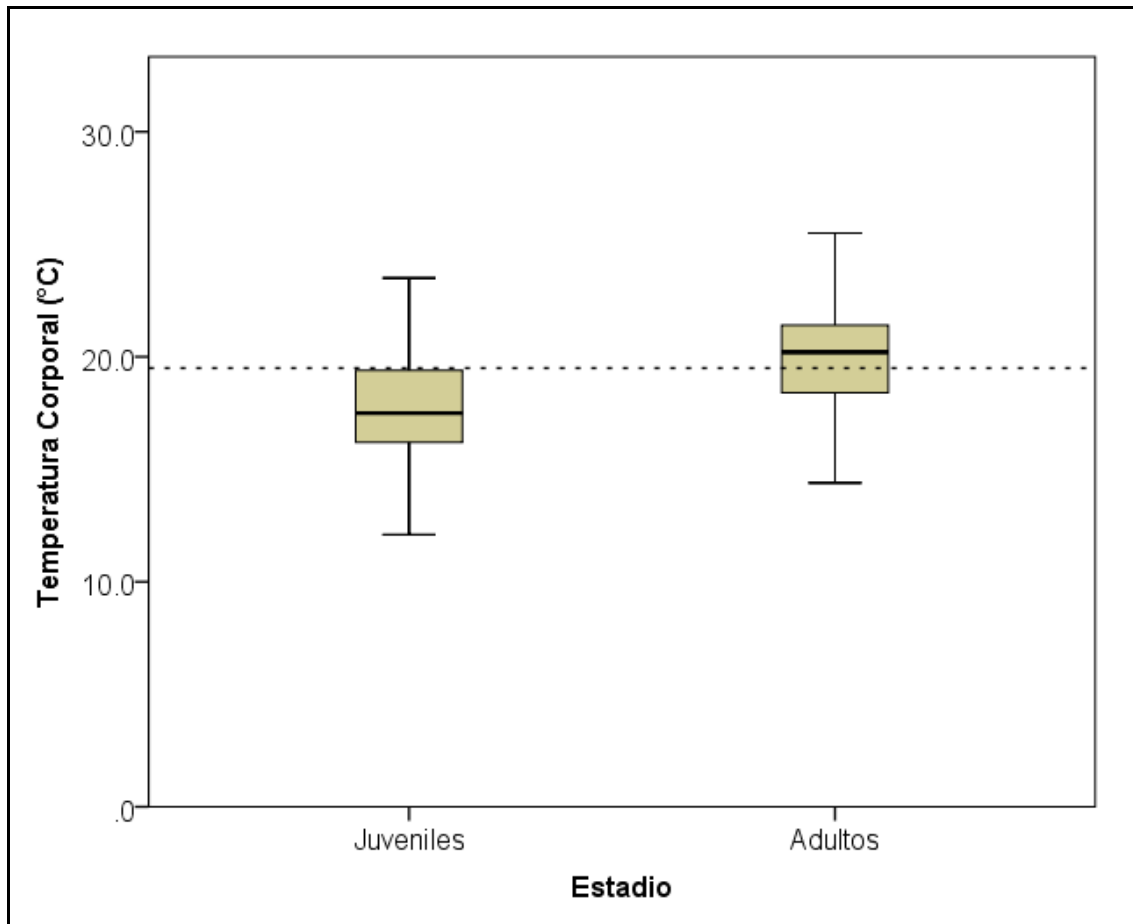


Figura 17. Temperatura corporal (°C) de juveniles y adultos de *Rhinella marina*. La línea punteada muestra la temperatura corporal media (19°C) entre juveniles y adultos. El desplazamiento del gráfico de adultos hacia arriba, indica que la temperatura corporal media es mayor a lo registrado en juveniles.

c. Uso de Microhábitat

Los microhábitat más usados por *Rhinella marina* son el suelo (arena, arcilla, gravilla), roca, sobre la vegetación y dentro del agua. En al menos dos pozas naturales se observaron entre montículos de arena refugios, semejantes a una pequeña caverna, cavada por los sapos. De los 405 individuos muestreados en ambos sitios, 42% fueron observados sobre vegetación, 36% en el agua, 18% en el suelo suelto y 4 % posados en roca (Fig. 18). Esto muestra que el uso del microhábitat de esta especie no es el mismo, ya que existe una diferencia significativa ($\chi^2(1, 405) = 41.089$; $P < 0.000$), de aquellos individuos que fueron observados principalmente sobre la vegetación o dentro del cuerpo de agua.

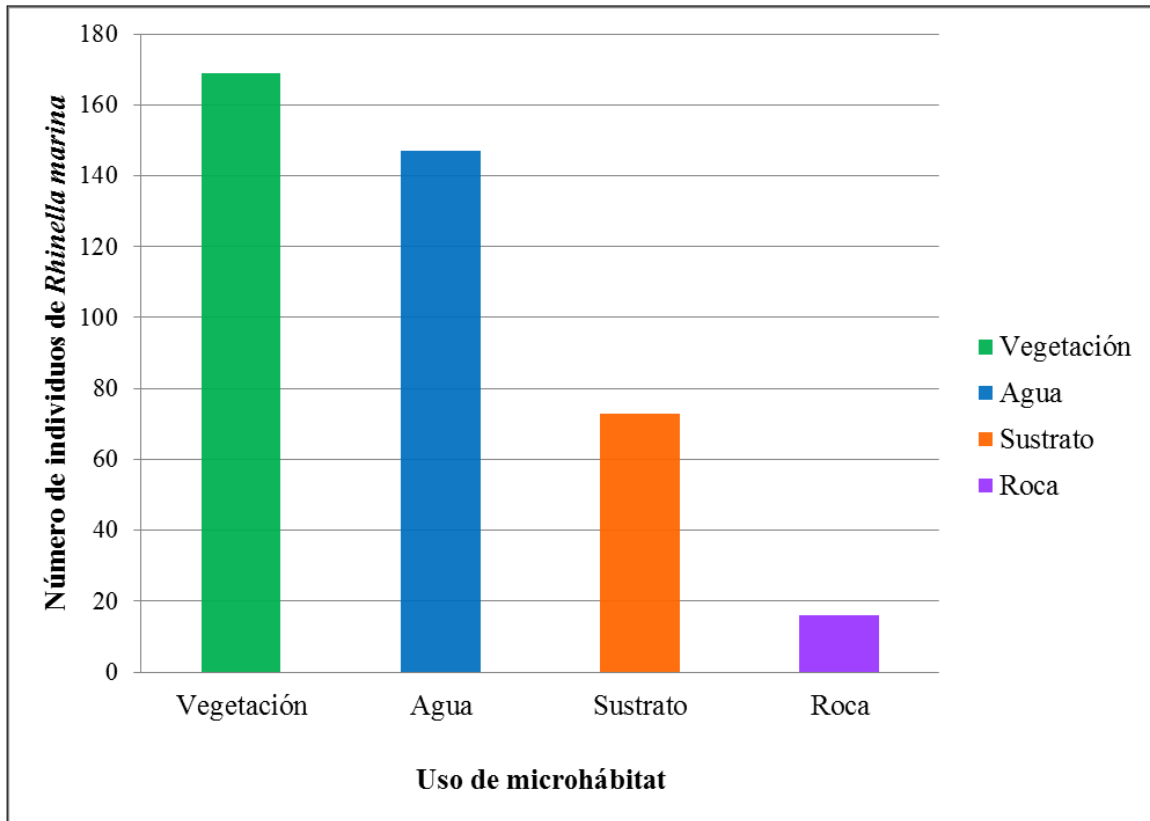


Figura 18. Uso de microhábitat de *Rhinella marina* durante el muestreo. Sin distinción del sitio, estacionalidad, estadio y sexo, la vegetación fue el microhábitat más usado con 162 individuos, seguido del agua con 147, sustrato con 73 y en menor número roca con 16 registros.

d. Comportamiento

Durante los muestreos se observaron diversas conductas previas a la captura de *Rhinella marina*, de las cuales el reposo, la hidratación, vocalización y alimentación fueron las más usuales. Los estudios realizados en este marco reflejan diferencias significativas en la frecuencia de conductas observadas ($\chi^2_{(3, 405)}=275.622$; $P < 0.0002$). El reposo fue la conducta más común en ambos sitios con 49.8%, seguido de la hidratación con 40.7%, y vocalización con 6.9%, sin embargo, la alimentación 2.4% sólo se observó en pozas naturales (Fig.19). Al contrastar el comportamiento entre estaciones, observamos nuevamente que el reposo e hidratación son las conductas más frecuentes ($\chi^2_{(3, 405)}= 8.022$; $P < 0.005$) tanto en la estación húmeda como seca.

Como se observa el llamado o vocalización es una conducta menos común que el reposo o hidratación, esto en parte se debe a que es un comportamiento propio de los machos y más frecuente durante la temporada de lluvia. En este sentido se detectó que la vocalización en las pozas naturales, comienza con dos meses de anticipación, siendo abril el mes donde se detectaron las primeras vocalizaciones, mientras que en las presas agrícolas se hicieron registros a partir del mes de junio (Fig. 20), esta diferencia significativa ($\chi^2_{(1, 28)}=5.143$; $P < 0.023$) implica el inicio tardío de la vocalización y con ello de la reproducción, en las presas agrícolas.

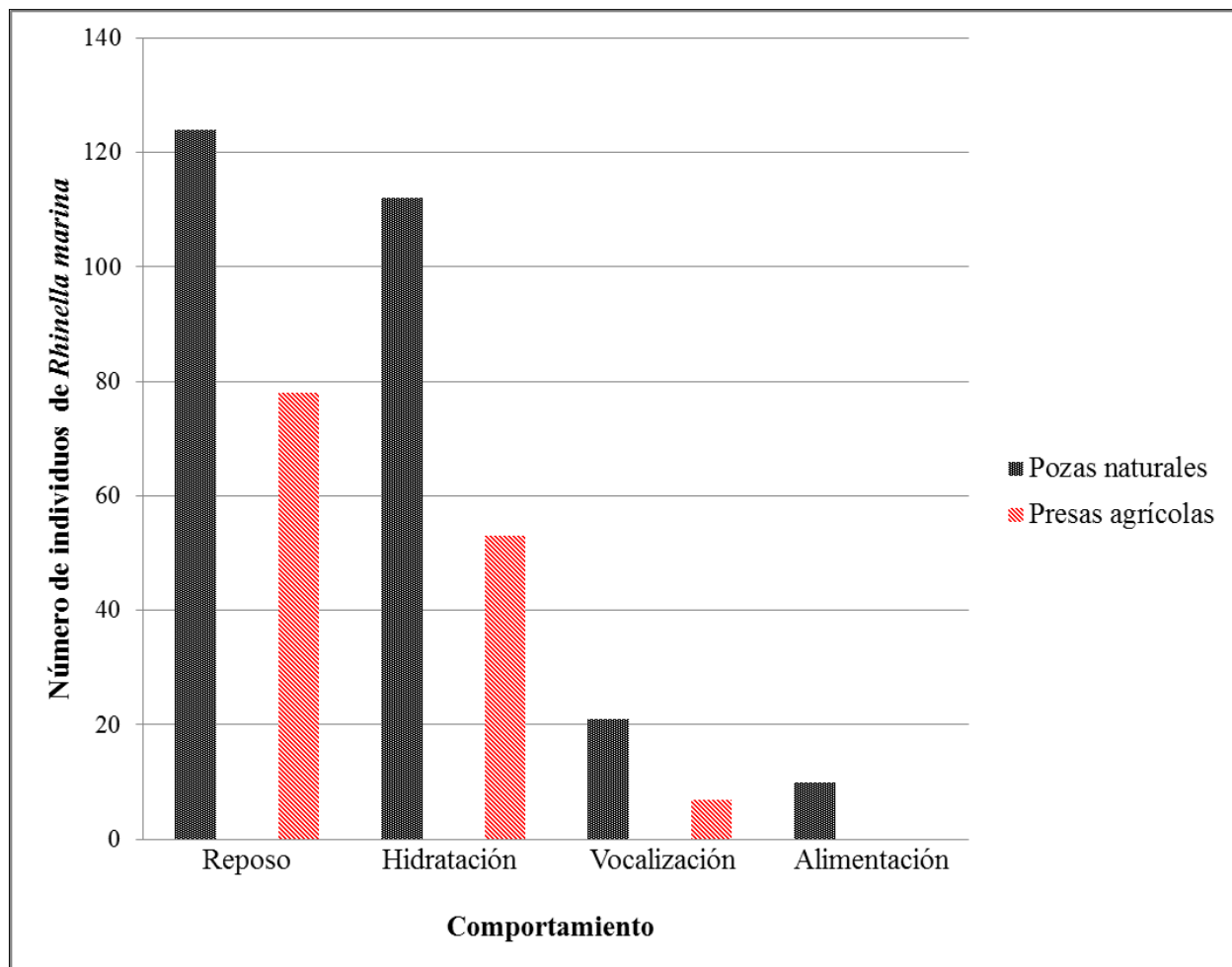


Figura 19. Conductas observadas en individuos de *Rhinella marina*. La conducta más usual fue el reposo con 124 individuos en pozas naturales y 78 en presas agrícolas. Como se observa en el gráfico, no se observaron individuos alimentándose en las presas agrícolas.

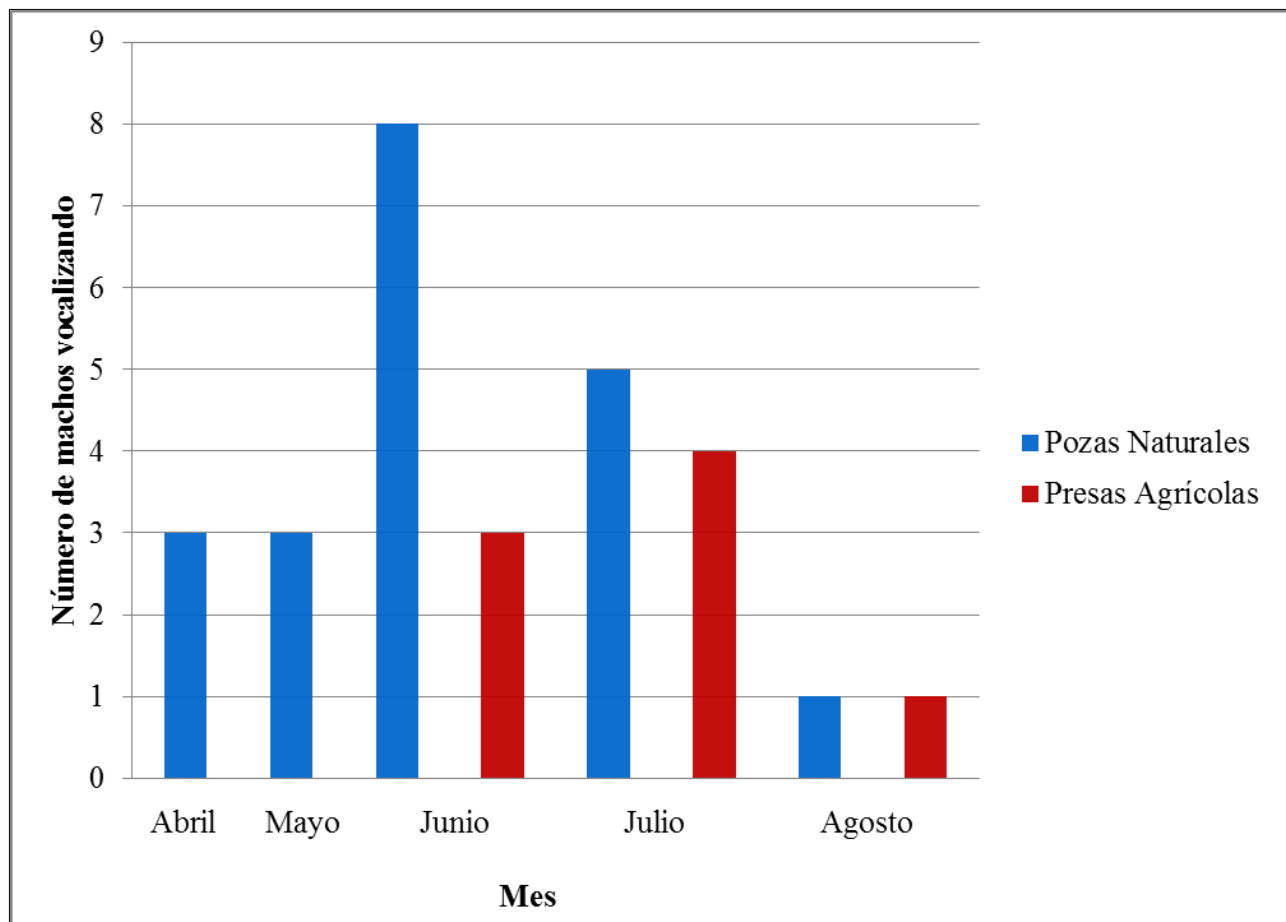


Figura 20. Periodo de vocalización de machos entre sitios. En azul se expresa el número de machos vocalizando en pozas naturales y en rojo en presas agrícolas.

3. Implicaciones Fisiológicas

a. Pérdida de Agua por Evaporación

El análisis para evaluar la pérdida de agua a través de los modelos de agar, reveló que después de 24 horas, la pérdida de agua entre sitios no es significativa ($H_{(1, 112)} = 0.160$; $P > 0.68$), esto significa que tanto los modelos de adultos como juveniles en promedio pierden la misma cantidad de agua en ambos sitios. Pese a no encontrar diferencias significativas en dichos sitios, se detectó que los juveniles pierden mayor proporción de agua que los adultos, después 24 horas de haberse colocado en los sitios estudiados ($H_{(1, 112)} = 8.364$; $P < 0.004$). Cabe señalar que también se estimó la pérdida de agua, en periodos de tiempo más corto, como por ejemplo donde mayor actividad de *Rhinella marina* se registró en campo, que abarca de 5 pm a 3 am. Considerando este lapso de 10 horas se detectó una pérdida de agua significativa ($H_{(1, 112)} = 10.131$; $P < 0.001$), donde la tendencia es la misma que la observada en el periodo de 24 horas, los modelos juveniles en promedio pierden 16.3% más agua que los adultos 11.5% al transcurrir 10 horas (Fig. 21).

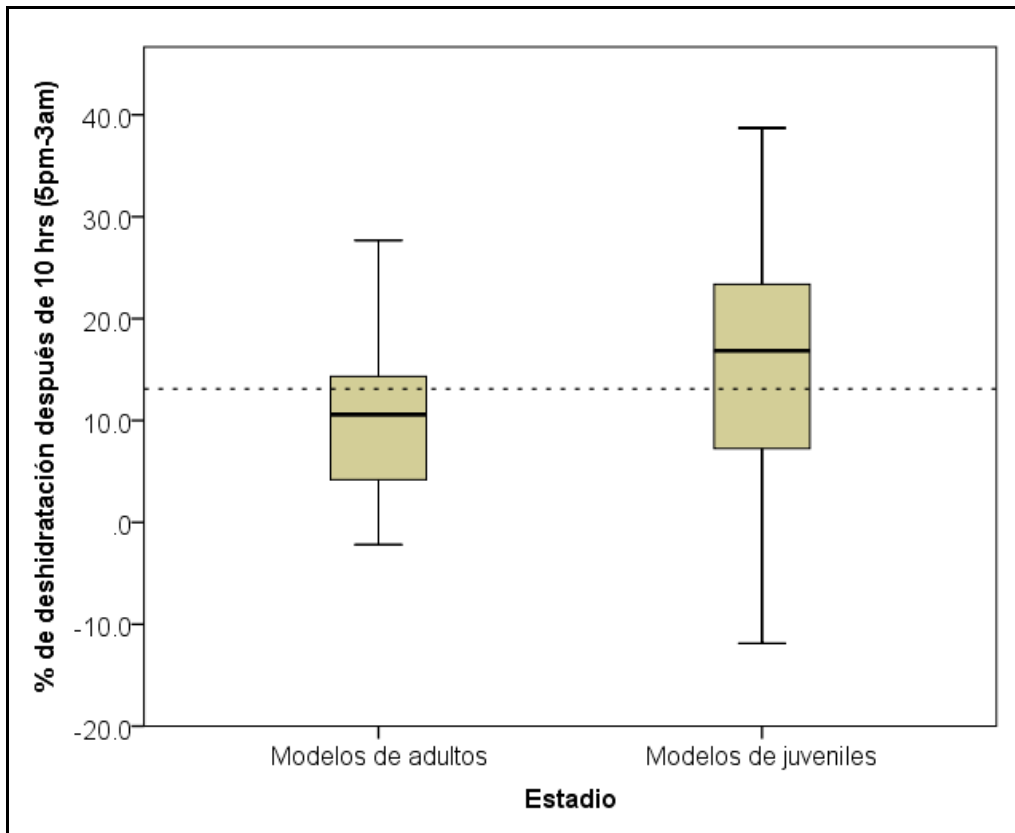


Figura 21. Pérdida de agua, entre modelos de adultos y juveniles después de 10 horas. El gráfico de caja y bigotes para modelos juveniles, indica que el porcentaje medio de agua pérdida después de 10 horas es mayor al de los modelos de adultos.

Paralelamente a estos resultados se encontró que los modelos de adultos pierden agua a la misma proporción tanto en pozas naturales como presas agrícolas, por lo que no se muestran diferencias significativas luego de 24 horas ($H_{(1, 56)} = 0.054$; $P > 0.817$) y 10 horas ($H_{(1, 56)} = 1.583$; $P > 0.208$). En el caso de los modelos de juveniles tampoco se muestran diferencias relevantes al transcurrir 24 ($H_{(1, 56)} = 0.121$; $P > 0.728$) y 10 horas ($H_{(1, 56)} = 1.501$; $P > 0.221$).

Otra inferencia en la pérdida de agua es lo obtenido de comparar los modelos por tratamiento. De esta comparación se determinó que aquellos modelos privados de humedad (Sol-Seco y Sombra-Seco) perdieron agua de forma significativa ($H_{(3, 112)} = 19.834$; $P < 0.0001$), luego de 24 horas. Esta diferencia significativa nuevamente se observa para el periodo de 10 horas ($H_{(3, 112)} = 11.217$; $P < 0.011$), de manera que los modelos húmedos perdieron menos agua que los tratamientos secos (Fig. 22).

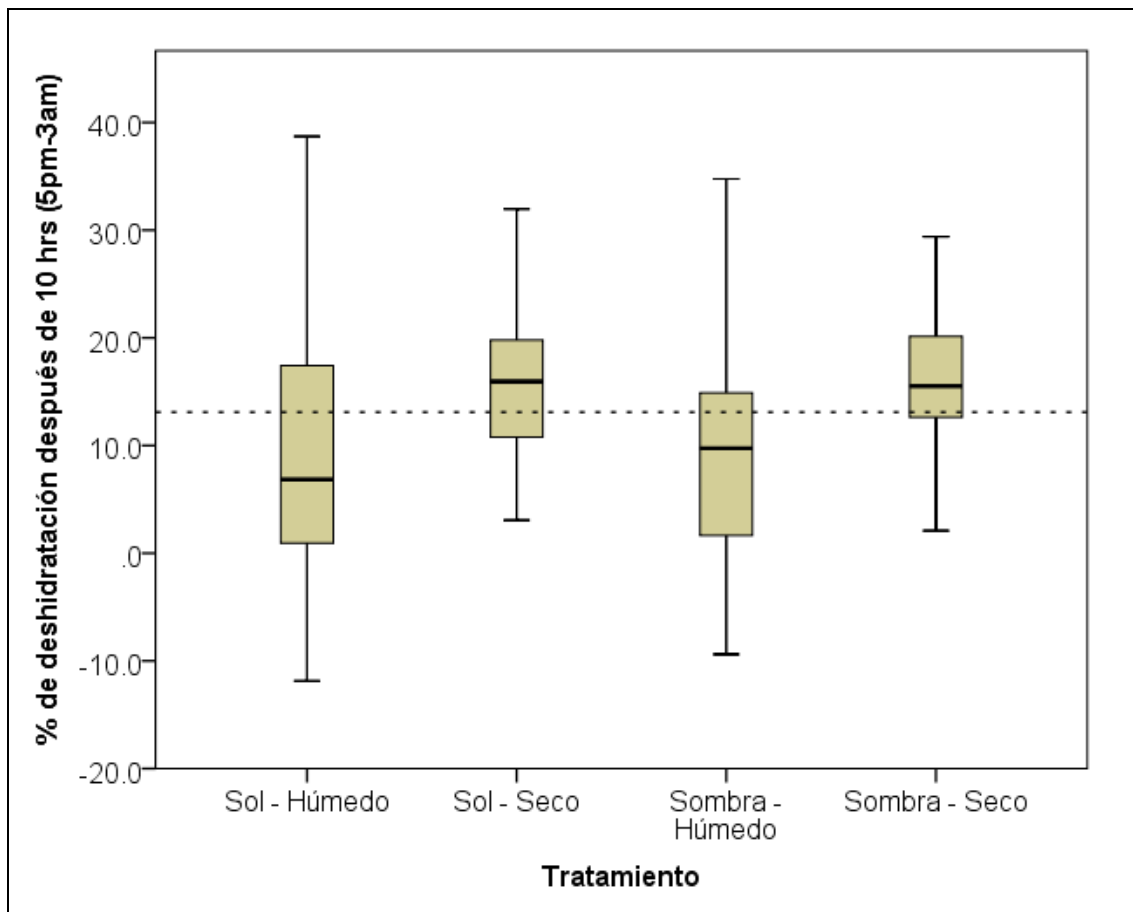


Figura 22. Modelos de agar a diferentes tratamientos, después de 10 horas. El porcentaje de deshidratación medio para tratamientos privados de humedad (Sol-seco y sombra-húmedo) es mayor al de los tratamientos húmedos. La línea punteada señala el porcentaje de deshidratación media global (12%).

b. Pruebas de Rendimiento Físico

A través de las distintas temperaturas (13, 18, 23, 28 y 33°C), a las que se sometieron a prueba los individuos de *Rhinella marina*, fue posible detectar el cambio en rendimiento en relación a la temperatura y distintos niveles de hidratación. Los resultados muestran que existen diferencias en el rendimiento (número de vueltas) de los organismos entre las distintas temperaturas ($H_{(4,75)} = 43.372$; $P < 0.0001$), siendo la temperatura de 23 °C a la cual los sapos mostraron mayor rendimiento (media = 55.1, U de Mann -Whitney $P < 0.001$). A esta temperatura los individuos también muestran mayor duración durante la prueba (50.1 minutos; ($H_{(4,75)} = 43.372$; $P < 0.0001$) como en el número de vueltas efectuadas (62.8 vueltas; ($H_{(4,75)} = 52.692$, $P < 0.0001$). Los resultados muestran además que a temperaturas tanto más altas como bajas el rendimiento de los organismos disminuye y que los 13°C y 33°C se aproximan a los límites críticos, los cuales marcan la condición a la que los organismos ya no pueden desempeñarse de manera normal (Fig. 23).

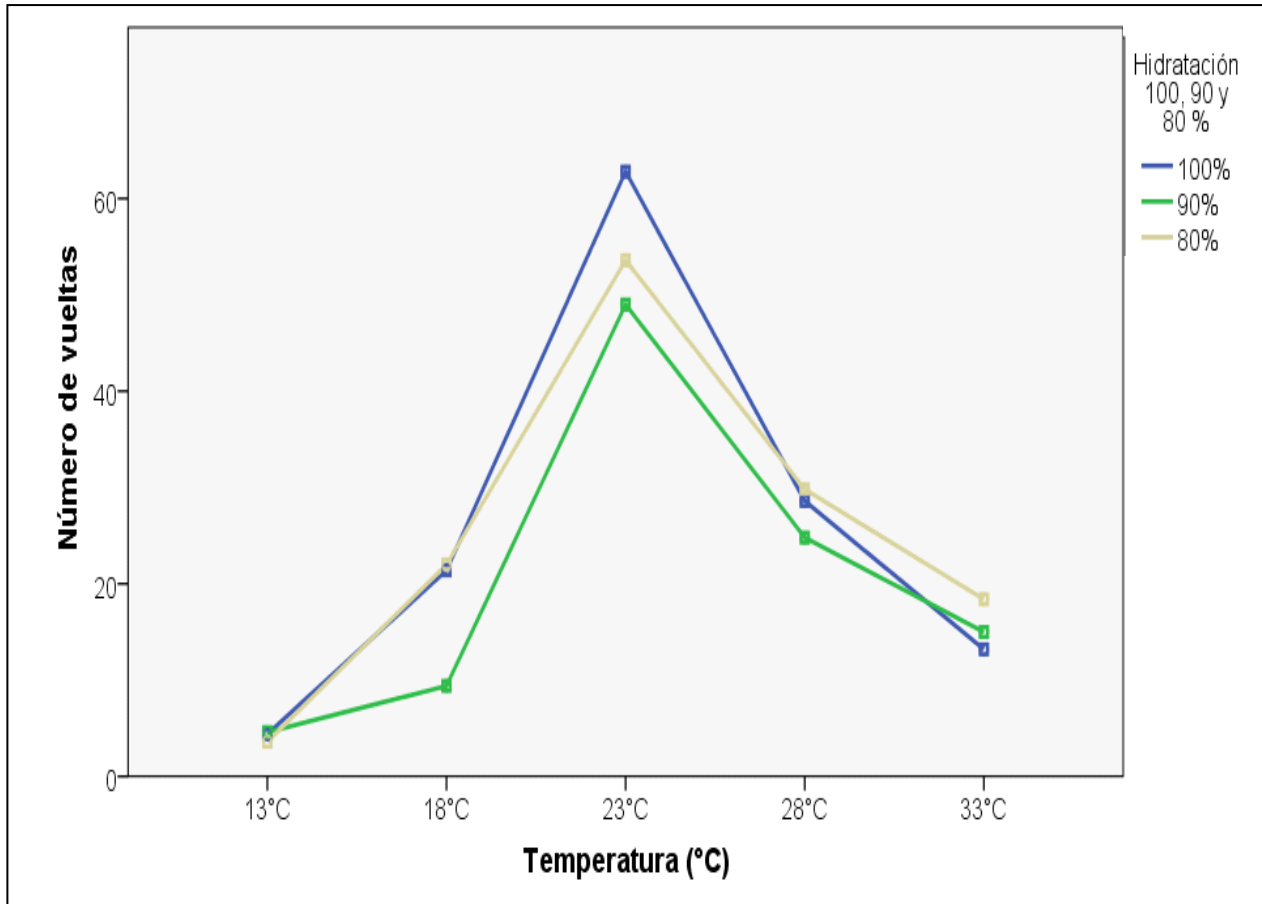


Figura 23. Número de vueltas efectuadas por *Rhinella marina* a distintas temperaturas (°C). El mayor desempeño se observa sobre los 23°C, conforme la temperatura se aproxima a los extremos de 13 y 33°C el desempeño disminuye, lo cual se refleja en el número de vueltas efectuado.

Además de los efectos de la temperatura sobre el desempeño de *Rhinella marina*, las pruebas de rendimiento revelan que los niveles de hidratación evaluados a 80, 90 y 100% no limitan el desempeño de los individuos, determinando que entre estos tres niveles hidratación no existen diferencias significativas, ni en el número de vueltas efectuadas (80%= 25.4 vs. 90%=20.5 vs. 100%=26; ($H_{(2, 75)} = 1.434$; $P > 0.488$), ni en el tiempo de actividad registrado en cada prueba (80%= 25.5 vs. 90%= 23 vs. 100%= 25.9; ($H_{(2, 75)} = 0.331$; $P > 0.847$).

Otra forma de reconocer el efecto de la temperatura e hidratación, es evaluando la velocidad a la que corrieron los sapos. Los resultados de este estudio señalan que el porcentaje de hidratación al que se encuentran los individuos no influye de forma significativa ($H_{(2, 75)}=3.386$; $P > 0.184$), sin embargo el análisis de velocidad y temperatura ambiental, indican que la velocidad de los sapos fue significativamente diferente a distintas temperaturas ($H_{(4, 75)}=45.350$; $P < 0.001$). Esto quiere decir que la velocidad al igual que el desempeño está determinada por la temperatura fluctuante (Fig. 24), y no por la hidratación.

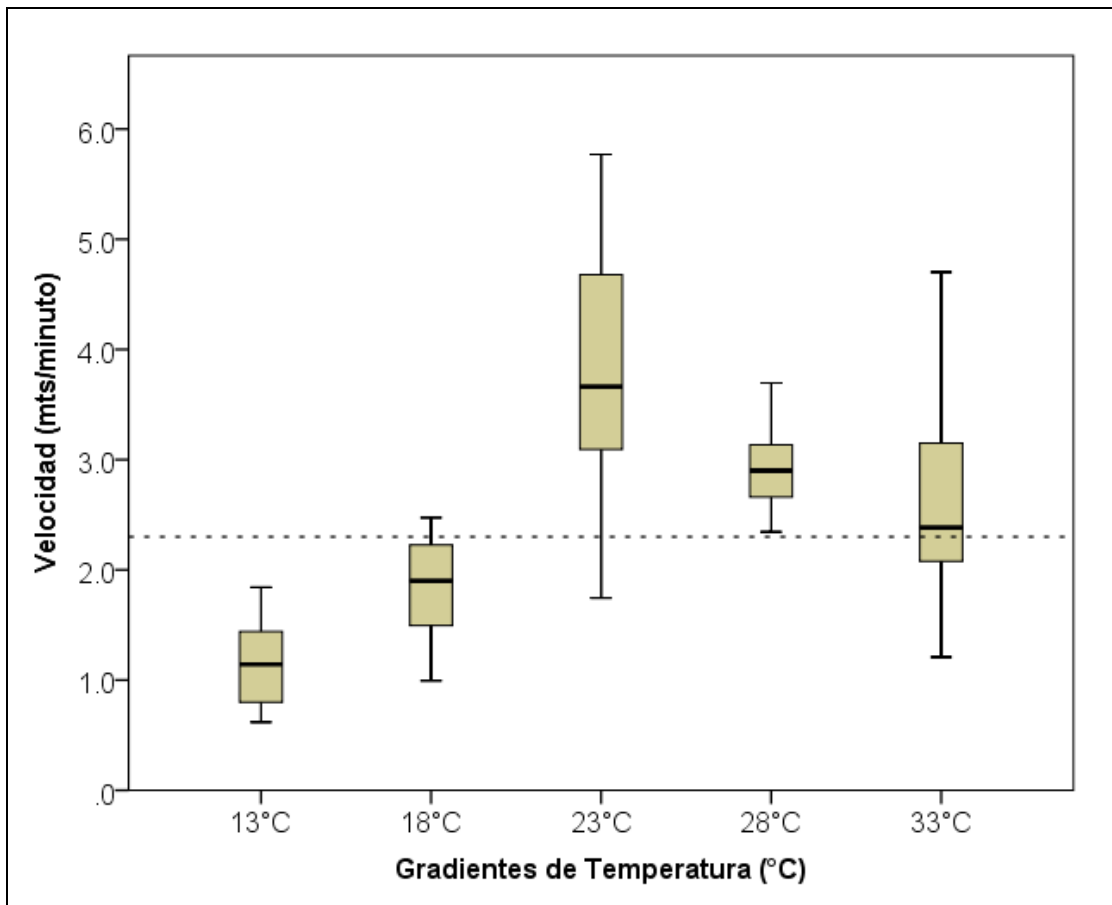


Figura 24. Velocidad de individuos evaluada a distintas temperaturas. Las gráficas de caja y bigotes muestran la velocidad de individuos a diferentes gradientes de temperatura. Se observa que la velocidad media de algunos individuos fue mayor frente a los 23°C.

4. Temperaturas ambientales históricas (1995-2014)

Los resultados obtenidos con el software ENVI 5.1, sobre las temperaturas fluctuantes en los sitios de estudio, revelan que de 1995 a 1999 la temperatura promedio es de 25.4 °C, situación que cambia significativamente a partir del año 2000 al 2014, ($H_{(3, 1391)} = 267.752$; $P < 0.0001$), donde la temperatura ambiental promedio es de 28.8 °C, de manera que la temperatura del área de estudio aumento 3.4 °C, en 14 años (Fig. 25).

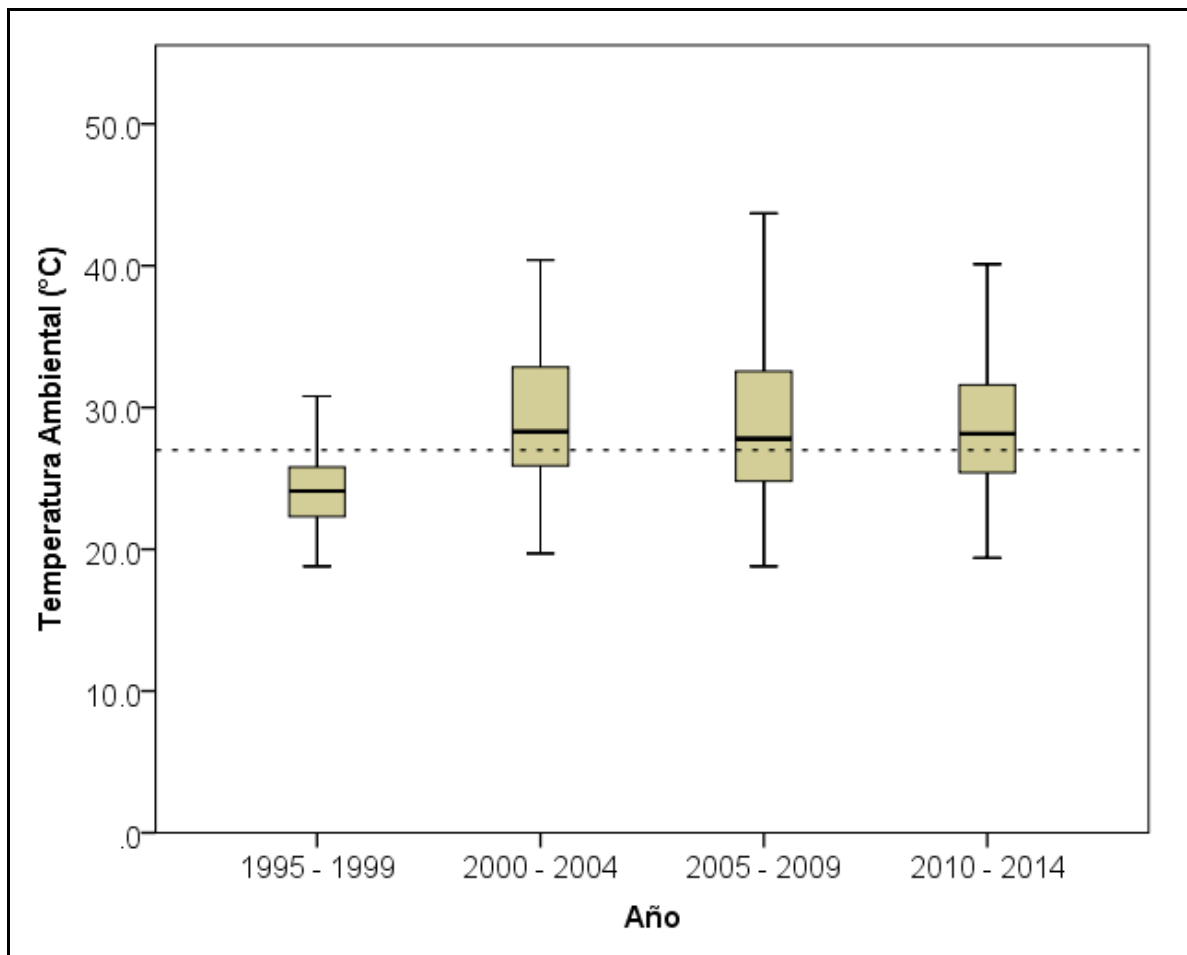


Figura 25. Temperaturas ambientales históricas de los sitios estudiados en un periodo de veinte años (1995 – 2014). Observamos que la temperatura media global es de 28.8 °C (línea punteada) y que el desplazamiento de las gráficas de caja y bigote hacia la parte superior, indican un aumento de la temperatura ambiental.

IX. Discusión

1. Características del hábitat

Son numerosos los efectos por transformación del hábitat, que actúan en contra de los anfibios, como el aislamiento de sus poblaciones, limitación del desplazamiento, restricción al acceso a sitios para la alimentación y reproducción, además de alteraciones fisiológicas y conductuales (Pearman, 1996; Knutson *et. al.*, 1999; Collins y Storfer, 2003; Lannoo, 2005; Riley *et. al.*, 2005; Wake y Vredenburg, 2008). Es así como las decisiones y/o necesidad humana se han encargado de modificar la constitución de los cuerpos de agua en zonas agrícolas de Oaxaca, de arroyos o riachuelos a presas agrícolas, cambiando así las condiciones y calidad de los sitios disponibles para anfibios nativos. Estas alteraciones, debido a la velocidad con la que ocurren, pueden afectar a poblaciones nativas ocasionando incluso la desaparición o disminución de las mismas. A pesar de ello, es posible que debido al tiempo de existencia y características de algunos de estos cuerpos de agua, éstos varíen en estabilidad y condiciones, por lo que resulta importante entender si proporcionan o limitan un hábitat adecuado para anfibios.

Este estudio comprende el uso por *Rhinella marina* de dos tipos de cuerpo de agua, presas agrícolas y pozas naturales en Villa de Zaachila. Nuestros resultados muestran que las presas agrícolas se diferencian de las pozas naturales por presentar suelos más firmes y cuerpos de agua más profundos, lo cual creemos influye en su presencia. Por un lado los suelos más firmes impiden que los sapos caven y/o encuentren refugios, además de que prefieren cuerpos de agua poco profundos para depositar sus huevos (Zug y Zug, 1979). Otra característica de las presas agrícolas es la cercanía que existe con asentamientos humanos, lo cual promueve el acceso de gente y el desarrollo de actividades de remoción de suelo. Por ejemplo durante los muestreos de campo, se observó que se llevaron a cabo actividades para la ampliación de la presa agrícola, no. 1 y no.2, lo cual implicó la remoción de vegetación que crecía alrededor de estos cuerpos de agua, así como la reducción del volumen de agua (Observación personal).

En contraste las pozas naturales se caracterizan por tener suelos más suaves y aguas poco profundas, así como mayor lejanía a asentamientos humanos y mayor densidad de vegetación y artrópodos. Nuestros resultados describen que la densidad de artrópodos, es decir la cantidad de alimento disponible para los sapos, y la densidad de herbáceas guardan una relación positiva, es decir, la disponibilidad de artrópodos aumenta a mayores densidades de vegetación, pues se ha documentado que conforme la cobertura vegetal disminuye, la abundancia de insectos también disminuye (Reiners *et. al.*, 1994). Alternamente la vegetación puede proveer mayor cantidad o diversidad de refugios, por ejemplo otras especies de sapos, como *Bufo bufo*, *Bufo calamita* o *Epidalea calamita* e incluso *Rhinella marina*, utilizan o prefieren vegetación densa, principalmente ante condiciones ambientales extremas (Denton y Beebee, 1993). Una tercera ventaja de los sitios con vegetación podría ser que favorecen la dispersión, ya que la pérdida de dosel reduce la conectividad con otros hábitats, reduciendo así la dispersión de anuros juveniles, en específico de la especie *Bufo americanus* o *Anaxyrus americanus* (Rothermel y Semlitsch, 2002).

Una posible explicación de la alta densidad de vegetación alrededor de las pozas naturales es que la ausencia y/o mayor lejanía de asentamientos humanos en los márgenes de los cuerpos de agua, reduce el acceso indiscriminado de gente, la apertura de campos de cultivo y pastoreo, o cualquier otra actividad que impida la proliferación de vegetación nativa. Paralelamente se reduce el desarrollo de infraestructura como caminos y carreteras que a menudo representa una barrera física para la dispersión de anfibios (Cooke, 1998). Aunado a esto consideramos que la vegetación juega un papel importante en la regulación de la temperatura del ambiente, ya que ésta retiene agua disponible en el medio, y con ello contribuye a mantener el ambiente más húmedo. La relación positiva entre la densidad vegetal y la humedad ambiental se ha documentado en al menos otro estudio (Procházka *et. al.*, 2011).

En este sentido la relación de la vegetación con las condiciones ambientales podría tener implicaciones importantes sobre la preferencia del hábitat, sobre todo cuando la temperatura y humedad influye, en diversos procesos como la alimentación, dispersión, desarrollo y reproducción (Zug y Zug, 1979). Esto a su vez permite deducir si la presencia de *Rhinella marina*, está determinada por las diferencias entre pozas naturales y presas agrícolas, o si paralelamente está respondiendo a variaciones de temperatura y humedad ambiental.

2. Presencia de *Rhinella marina* entre sitios

Se sabe que los organismos seleccionan hábitats en los que encuentren condiciones que favorezcan su establecimiento y sobrevivencia, como donde puedan adquirir alimento, dispersarse, refugiarse, reproducirse y eludir depredadores (Matthews y Matthews, 2010). A pesar de que *Rhinella marina* ha sido descrita como una especie tolerante y favorecida por la perturbación humana (Zug y Zug, 1979), nuestros resultados muestran que las pozas naturales tanto en periodo de secas como de lluvia, presentaron mayor número de individuos de esta especie que las presas agrícolas. Sin embargo, este patrón general cambia al analizar la preferencia de sitios por estadios, siendo los adultos quienes en particular usan más las pozas naturales, mientras que los juveniles las presas agrícolas.

La selección de presas agrícolas por juveniles se mantiene tanto en época de secas como de lluvias. En contraste, el uso de pozas por adultos cambia por estaciones al analizarse por sexos, específicamente los machos ocupan ambos tipos de pozas siendo más abundantes durante la temporada de lluvias mientras que las hembras, en su mayoría ocupan las pozas naturales, siendo más abundantes en la época de secas. Diferencias en el uso de hábitat por sexos y estadios han sido reportados para esta especie en donde se señala que los machos ocupan cuerpos de agua mientras que las hembras están asociadas a zonas boscosas (González-Bernal *et al.*, 2015).

Para nuestro estudio consideramos que estos patrones pueden relacionarse, en el caso de los machos, a la preferencia que éstos muestran por ocupar cuerpos de agua en conjunto con la temporada reproductiva y en el caso de las hembras a la baja disponibilidad de agua en el ambiente debido a la estacionalidad del sitio lo cual las obliga a moverse de sitios preferidos como parches con vegetación a aquellos en los cuales puedan tener acceso a agua, en este caso las pozas naturales (Zug y Zug, 1979).

La diferencia en uso de presas agrícolas vs naturales puede entenderse como la selección que la especie tiene en relación a los recursos que encuentra en las mismas. En nuestro estudio las pozas naturales presentan mayor variedad de refugios (vegetación), en algunos casos suelos más suaves que les facilita el enterrarse, mayor lejanía a asentamientos humanos y mayor cantidad de alimento (artrópodos). Esta diferencia en uso de tipos de reservorios de agua en relación a los distintos recursos que ofrecen se ha observado también en otras especies de anuros por ejemplo, *Uperoleia laevigata*, *Lymnodynastes peronii* y *L. tasmaniensis*, prefieren ocupar cuerpos de agua con altas densidades de vegetación y carentes de peces independientemente de si son presas o estanques (Hazell *et. al.*, 2004).

Esto sugiere que los sitios modificados, es decir las presas agrícolas, es donde posiblemente los individuos de *Rhinella marina*, se encuentran bajo mayor estrés. A pesar de que otros estudios señalan que los sitios perturbados, como zonas alrededor de los asentamientos humanos, áreas abiertas por actividad humana e incluso caminos y carreteras son el hábitat de encuentro común para esta especie (Sexton *et. al.*, 1964 y Heatwole, 1996) es importante reconocer los recursos que dichos sitios les ofrecen para entender el uso que hacen de ellos. Por ejemplo, la preferencia por espacios abiertos como caminos y carreteras se debe a que éstos funcionan como circuitos que facilitan el libre movimiento de individuos de esta especie en comparación con hábitats con vegetación (Seabrook y Dettman, 1996). No obstante, estamos convencidos que además de la libertad de movimiento que pudiese brindar un hábitat, los sapos de *Rhinella marina* al igual que otros anfibios, requieren sitios óptimos de reproducción, refugio y alimentación.

En ese sentido, la alta disponibilidad de alimento que las pozas naturales presentan, puede ser un recurso determinante para la preferencia de la especie por éstas. Principalmente cuando se entiende que es a través del alimento como los organismos obtienen energía, y mientras menos tiempo necesiten invertir para encontrarlo, tendrán más tiempo que puedan dedicar a otras actividades como la búsqueda de refugio, desplazamiento, vocalización y reproducción (Sztatecsny y Schabetsberger, 2005).

Un indicio de posibles factores de estrés ambiental, disponibilidad de alimento y de la calidad del hábitat, es la condición corporal de individuos (Schulte-Hostedde *et al.*, 2005). La condición corporal se refiere a la cantidad de energía que almacena un individuo y mientras mayor sea la disponibilidad de recursos en el hábitat, los organismos presentarán mejor condición corporal (Schulte-Hostedde *et al.*, 2005). En este estudio las hembras mostraron estar en mejor condición corporal en pozas naturales, tanto en estación seca como lluviosa. Por lo anterior estamos convencidos que las características y disponibilidad de recursos que ofrecen las pozas naturales, les permiten alcanzar mejores condiciones corporales, que pueden mejorar la producción y puesta de huevos.

Al comparar la condición corporal entre sexos, se observó que los machos en general están en peor condición. Una posible explicación es que los machos se desarrollan a un ritmo más lento, alimentándose con menos frecuencia y durante la época reproductiva dedican gran parte de sus reservas energéticas al canto y defensa de territorio para el apareamiento (Zug y Zug, 1979). Por ejemplo, en anuros de *Uperoleia rugosa* se ha observado que los machos llegan a perder el 30% de su peso corporal, debido al gasto energético que implica la defensa de territorio y vocalización (Robertson, 1986).

Para el caso de juveniles se esperaba que los individuos provenientes de pozas naturales se encontraran en mejor condición corporal, no obstante, los resultados informan que los juveniles provenientes de presas agrícolas, se encuentran en mejor condición corporal. A pesar de que las presas agrícolas muestran menor disponibilidad de artrópodos en general, la abundancia de los mismos en esos sitios aumenta con el cambio de estación, lo cual permite que los juveniles se recuperen de la posible baja ingesta que presentan, siendo la estación humedad aquella en la que mejor condición corporal muestran. Por otro lado, es en las presas agrícolas donde existe menor densidad de individuos adultos y por consiguiente menor competencia intraespecífica.

Rhinella marina es reconocida por su versatilidad para ocupar una gran variedad de hábitats, al menos en donde ha sido introducido (Freeland y Kerin, 1988; Lever, 2001). La mayor presencia de juveniles en presas agrícolas, enfatiza lo expuesto anteriormente, sin embargo, creemos que existen otro tipo de presiones ajenas al estudio que fuerzan a los juveniles a divergir. Por ejemplo la competencia entre individuos suele estar asociada por la adquisición de un recurso esencial (MacArthur y Levins, 1967). Esta interacción puede afectar la adecuación de los individuos, forzándolos a diferir, para evitar la competencia por el recurso (Schoener, 1982; Begon *et. al.*, 1990). A pesar de que no hay evidencia para *Rhinella marina*, que los describa como territoriales en su distribución natural (Zug y Zug, 1979), es probable que los juveniles escojan sitios distintos a los preferidos por adultos para evitar la competencia con los mismos. Tal y como se estudió con poblaciones invasoras que muestran repartición del espacio entre sexos y estadíos de esta especie en donde se señala que los juveniles ocupan sitios distintos a los preferidos por los adultos (González-Bernal *et al.* 2015). Además de la competencia otro factor que podría influir en la decisión de evitar sitios ocupados por adultos es el canibalismo. Esta acción entre sapos de *Rhinella marina*, se encuentra ampliamente documentada. Tanto casos de ingesta de sapos juveniles por conespecíficos adultos como estrategias por parte de los adultos para atraer a juveniles y poder depredarlos ocurren en poblaciones invasoras evidenciando que la mayoría de los juveniles como respuesta divergen de los sitios concurridos por sapos adultos (Pizzato y Shine, 2008). Estos resultados sugieren que la preferencia por las presas agrícolas está en función de la presencia de sapos adultos, más que por el hecho de que las presas agrícolas proporcionan los requerimientos de hábitat necesarios para los juveniles.

Es importante señalar que adicionalmente a la interacción intraespecífica, existen otros factores como las condiciones ambientales estacionales que han demostrado tener estrecha influencia en la actividad de *Rhinella marina* (Zug y Zug, 1979). Por ejemplo la vocalización de los machos suele estar asociada a la época húmeda, aumentando la presencia de los mismos alrededor de los cuerpos de agua (Zug y Zug, 1979). Durante las lluvias, la ocupación de los sitios entre adultos es distinta a lo observado el resto del año siendo los machos significativamente más cuantiosos que las hembras. Esta tendencia se ha reportado en otros estudios donde se menciona que los machos presentan mayor actividad en la temporada lluviosa, siendo más frecuentes que las hembras en abril y ocupando los cuerpos de agua escogidos para la reproducción más temprano que las hembras, pues es el llamado de los machos el que atrae a éstas (Zug y Zug, 1979; Wogel *et. al.*, 2005; Wells, 2007).

Nuestros resultados muestran que la vocalización de los machos se prolongó por más de un mes, y con ello la ocupación de machos entre pozas de manera que el patrón de actividad asociado a la vocalización tuvo lugar a partir de abril, cesando en agosto. Este periodo de actividad corresponde a lo observado en pozas naturales, ya que en las presas agrícolas la vocalización tuvo lugar dos meses después de lo registrado en pozas naturales, es decir comenzó en junio y terminó en agosto.

Esta aparición tardía de la temporada reproductiva en presas agrícolas puede tener dos implicaciones; por un lado muestra que los machos toman más tiempo en ocupar estos sitios para la reproducción, probablemente para evitar condiciones subóptimas o para reducir la competencia con los machos que ocupan las pozas naturales, y por otro puede tener un efecto en el éxito de apareamiento por parte de los machos, ya que mientras menor sea el tiempo o duración de la reproducción, menor número de noches disponibles para las actividades reproductivas (Wogel *et. al.*, 2005; Wells, 2007). Por lo anterior podemos afirmar que adicionalmente a las características intrínsecas de las pozas naturales y presas agrícolas, los sapos de *Rhinella marina* están respondiendo a los cambios ambientales estacionales.

3. Implicaciones fisiológicas

a. Pérdida de Agua por Evaporación

A diferencia de otras especies de anuros, que reducen la pérdida de agua por la piel con recubrimientos o capas cutáneas (Withers *et. al.*, 1984; Wygoda, 1984; Wygoda, 1988), la mayoría de los sapos carece de mecanismos cutáneos que ayuden a reducir la pérdida de agua por evaporación a través de la piel (Tracy, 1976; Wygoda, 1988; Seebacher y Alford, 2002).

Los resultados en este marco sugieren que los modelos de agar exhiben tasas de desecación similares en pozas naturales y presas agrícolas, pero significativamente diferentes entre modelos de adultos y juveniles. Esta diferencia puede explicarse debido a la relación superficie-volumen ya que entre mayor sea la relación de área superficial comparada con el volumen de un individuo, éste llega a perder más rápidamente calor o agua (Shoemaker *et. al.*, 1992; Tracy *et. al.*, 2010). Los modelos de juveniles muestran pérdidas de agua por evaporación mayores a la que reflejan los adultos, en promedio pierden 51.1 % de su peso después de 24 horas, esta tendencia también puede observarse en periodos de tiempo más cortos, sobretodo en la noche, cuando se muestran más activos. En otro estudio se informa que los límites críticos de desecación en sapos es de aproximadamente 52% de su peso corporal (Krakauer, 1970), esto señala que las condiciones en los sitios estudiados pueden exponer a los juveniles a estar cercanos a sus límites críticos. Esto claramente muestra una situación de estrés para los juveniles, la cual deben mejorar mediante estrategias conductuales y/o fisiológicas que les permitan reducir la deshidratación y el riesgo a alcanzar dichos límites.

Por otro lado, las tasas de pérdida de agua están estrechamente relacionadas al tamaño, tipo de hábitat, temperatura y humedad ambiental, entre otros (Licht y Bennett, 1972). Un ejemplo de esta relación es lo reportado en un estudio con sapos de *Rhinella marina*, en donde se determinó que los sapos más grandes pierden mayor cantidad de agua y lo hacen a un ritmo acelerado (Seymour y Lee, 1974), por el contrario nuestros resultados con modelos de agar señalan algo totalmente opuesto, ya que la mayor pérdida de agua se registró en nuestros modelos de juveniles lo cual refleja la relación masa-volumen, que se refiere a la tolerancia a la pérdida de agua en función del tamaño corporal, es decir que la pérdida de agua de un organismo pequeño aumenta en relación al volumen de agua que puede almacenar, de manera que los individuos más grandes tienen mayor resistencia a la pérdida de agua. (Shoemaker *et. al.*, 1992; Tracy *et. al.*, 2010).

Cabe mencionar que estos resultados contrastantes pueden indicar una diferencia en el método empleado para evaluar la pérdida de agua, ya que los modelos de agar no simulan muchas de las estrategias fisiológicas y conductuales de sapos vivos. Sin embargo; dichos modelos se han empleado de manera exitosa, ya que bajo condiciones similares sufren las mismas tasas de evaporación de agua que un organismo vivo, además de proyectar temperaturas superficiales comparables con la de individuos en su hábitat natural (Wygoda, 1984; Navas y Araujo, 2000). Por lo cual los modelos de agar pueden reflejar las condiciones hídricas y térmicas de los microhábitats seleccionados por *Rhinella marina* como se ha visto en otros estudios (Schwarzkopf y Alford, 1996). Esto es importante si se considera que la elección de sitios para refugiarse es esencial para sobrevivir a las condiciones ambientales (Zug y Zug, 1979).

Los sapos al igual que la mayoría de los anfibios, son más activos durante la noche, permaneciendo refugiados en el día sobre todo cuando la temperatura ambiental es elevada y la humedad es baja (Denton y Beebee, 1993; Seebacher y Alford, 1999; Seebacher y Alford, 2002). Por lo tanto el conocimiento obtenido a partir de los diferentes tratamientos a los que fueron expuestos los modelos de agar, contribuye a entender cuáles son los requerimientos a nivel de microhábitat que reducen el riesgo de deshidratación. Nuestros resultados muestran que los tratamientos privados de humedad (Sol- Seco y Sombra-Seco), redujeron significativamente su masa corporal por deshidratación.

Esto sugiere que *Rhinella marina* necesita de sitios húmedos para mantenerse hidratado, que les permiten reducir la tasa de pérdida de agua por evaporación, como zonas bajo árboles (Seebacher y Alford, 2002). Por tal, la elección y disponibilidad de microhábitat es esencial para la sobrevivencia, sobre todo cuando la falta de humedad y refugios adecuados son la principal causa de muerte en adultos de *Rhinella marina* (Zug y Zug, 1979). Por ejemplo, se sabe que durante la estación seca los sapos de esta especie hacen uso de sitios más frescos con lo que reducen la pérdida de agua y temperatura corporal, de lo contrario se estima que pueden perder más del 25% del peso corporal por evaporación de agua (Seebacher y Alford, 2002). Ante el riesgo a la desecación, la elección de microhábitats frescos parece ser sumamente importante cuando las condiciones ambientales son secas. Se ha reportado que los microhábitats utilizados por *Rhinella marina* en donde ha sido introducido, son similares a los usados por sus conespecíficos nativos, así como para otras especies de sapos (Zug y Zug, 1979; Denton y Beebee, 1993; Seebacher y Alford, 2002).

En este estudio, la mayoría de los sapos se observaron sobre vegetación y dentro del cuerpo de agua, principalmente a la orilla. Estas características de uso de microhábitat se ha reportado en otros anuros, sobre todo para especies terrestres (Lima y Magnusson, 1998). El uso de vegetación generalmente estuvo asociado al reposo y alimentación, cabe mencionar que a pesar de que esta última conducta fue menos frecuente que las demás, sólo se observó en pozas naturales, y que posiblemente esté relacionado con lo ya mencionado sobre la disponibilidad de artrópodos en estos sitios. Adicionalmente a la vegetación, el margen de los cuerpos de agua fue el microhábitat más usado, el cual se relaciona principalmente con la hidratación, ya que no se observaron amplexos en ninguno de los cuerpos de agua estudiados, pese a escuchar machos vocalizando durante las lluvias.

Este uso diferencial de microhábitats parece obedecer ciertas características conductuales de los sapos, de manera que el uso de vegetación y agua, en la mayoría de los casos estuvo asociado al reposo e hidratación respectivamente, sin distinción entre sitios y estaciones. No obstante en otros estudios se informa que durante la estación seca, la vegetación fue el microhábitat más deshidratante, situación que cambia durante la estación húmeda (Seebacher y Alford, 1999; Seebacher y Alford, 2002).

Las conclusiones generales de este estudio es que los microhábitat frescos fueron más usados por *Rhinella marina*, durante periodos de sequía, demostrando que las variaciones estacionales influyen en la elección de microhábitats para refugiarse (Seebacher y Alford, 1999; Seebacher y Alford, 2002). De manera, que *Rhinella marina* debe elegir microhábitat húmedos, para minimizar la pérdida de agua por evaporación a través de la piel.

a. Rendimiento físico

Es claro que la temperatura y humedad ambiental representan una limitante de la actividad de anfibios. En anuros se ha observado que cuando las condiciones ambientales son subóptimas, éstos desarrollan respuestas conductuales, para evitar alcanzar temperaturas corporales que excedan su rango de tolerancia térmica, es decir cuando su límite va más allá de la temperatura crítica máxima (TCMax) o se encuentra por debajo de la temperatura crítica mínima (TCMin). Si los organismos alcanzan estos niveles pueden sufrir alteración parcial o total de sus funciones fisiológicas y motrices (Lutterschmidt y Hutchison, 1997; Hillman *et. al.*, 2009). Estudios previos han descrito que las pruebas de desempeño físico, se han empleado con gran éxito para determinar la TCMax y TCMin, así mismo también es posible determinar la temperatura óptima (Topt), que es reflejo de la temperatura preferida por los individuos (Cowles y Bogerts, 1944).

Los resultados a partir de evaluar el rendimiento físico muestran que los sapos mantuvieron periodos más largos de actividad (medidos por número de vueltas) y mayor velocidad (metros/minutos) a los 23°C, esto sugiere que las pruebas de laboratorio nos dan una inferencia de la temperatura óptima (Topt), en la que los sapos se muestran más activos. Paralelamente se muestra que conforme la temperatura ambiental desciende a 13°C o asciende a 33°C, el desempeño de los sapos decae.

Por ejemplo observamos que la mayoría de los sapos expuestos a 13°C, después de dar 3 vueltas a la pista de prueba, entorpecieron o redujeron sus movimientos. Esta incapacidad de respuesta también fue observada en algunas ocasiones durante la prueba a 33°C, aunque fue más frecuente observar que los sapos extendían el tiempo de descanso antes de completar una vuelta. Estas conductas observadas sugieren que la temperatura corporal de *Rhinella marina* esta influenciada por la temperatura ambiental, cuya exposición próxima a sus TCM_{in} y TCM_{ax}, puede determinar su sensibilidad o resistencia a las cambiantes condiciones de temperatura del medio.

Las condiciones ambientales, no sólo producen variación en la temperatura corporal de sapos, sino que también influyen en el nivel de hidratación (Preest y Pough, 1989). Esta percepción no es del todo consistente con lo reportado en este estudio, ya que nosotros observamos que sin importar el nivel de hidratación de 80, 90 o 100%, el rendimiento de *Rhinella marina* no mostró alteración, de manera que los sapos totalmente hidratados no fueron más veloces, ni efectuaron mayor número de vueltas que los sapos parcialmente hidratados. Esto significa que la hidratación a esos niveles no muestra influencia en el rendimiento de *Rhinella marina*, siendo la temperatura ambiental el principal desafío para los sapos de esta especie durante sus periodos de actividad. Contrariamente a este planteamiento se ha documentado que el rendimiento físico de otras especies de sapos como *Bufo americanus* o *Anaxyrus americanus*, está determinado por la temperatura fluctuante y el porcentaje de hidratación, concluyendo que los sapos hidratados al 100 y 90%, muestran mejor rendimiento locomotriz conforme la temperatura fluctuante aumenta, pero a medida que los sapos se encuentran más deshidratados, el rendimiento decae paralelamente con las temperaturas más bajas (Preest y Pough, 1989).

No obstante consideramos que estas observaciones contrastantes entre *Bufo americanus* o *Anaxyrus americanus* y *Rhinella marina* pueden ser el resultado del método empleado, aunque no descartamos que la sensibilidad a la temperatura y nivel de hidratación, varía entre individuos, dejando entre ver que algunos sapos han desarrollado estrategias conductuales y/o fisiológicas para mantener dentro de ciertos límites el nivel de deshidratación, pero muy probablemente no han establecido estrategias exitosas para resistir un rango más amplio de temperaturas ambientales.

Esto significa que aquellos individuos con un margen de tolerancia térmico amplio tienen mayores posibilidades de establecerse en un hábitat desconocido, debido a que muestran mayor resistencia a las condiciones cambiantes del nuevo hábitat (Diamond *et. al.*, 2011). Por lo que suponemos que sólo aquellos sapos con un margen de tolerancia térmico más amplio, tienen mayores posibilidades de resistir a los cambios en condiciones ambientales. Aunque también suponemos que a pesar de que algunos individuos han sido capaces de resistir a las cambiantes condiciones ambientales, el impacto de la perturbación humana representa un factor de estrés adicional, cuyo efecto puede agudizar los cambios de temperatura ambiental.

Por tal motivo resulta importante conocer si la temperatura ambiental ha cambiado a través del tiempo, como resultado de la creciente actividad humana que se desarrolla en el área de estudio. En este sentido las estimaciones de temperatura ambiental revelan que la temperatura fluctuante entre sitios es similar, esto podría indicar que a pesar de las diferencias contrastantes en la densidad vegetal, ésta no influyó en la regulación de la temperatura a través de la reflexión de los rayos solares o por el efecto de sombra como lo señalan algunos estudios (Lannoo, 2005; IPCC, 2013; Wake y Vredenburg, 2008). Esto supone que independientemente de las características y tiempo de existencia de los cuerpos de agua, las diversas prácticas que se llevaron y/o se llevan a cabo en los alrededores de los sitios estudiados han contribuido al aumento de la temperatura. Un ejemplo de esto, es lo obtenido a partir de estimar las temperaturas ambientales históricas, donde la temperatura promedio estimada de 1995 a 1999 fue de 25.4°C, situación que cambia a partir del año 2000, donde se observa un aumento de la temperatura promedio a 28.8°C, por lo que suponemos que más que tratarse de un efecto episódico, parece ser un efecto derivado de la transformación del entorno.

Estos resultados sustentan nuestra hipótesis sobre que la transformación del hábitat y modificación de cauces naturales, pueden agudizar algunos efectos de variación local de la temperatura y humedad ambiental, siendo los sitios más alterados aquellos donde la especie se encuentra afectada negativamente. Ya que actuando en sinergismo con las variaciones de temperatura y humedad, las prácticas antrópicas reducen la idoneidad del hábitat ocupado por este y otros anfibios, limitando la disponibilidad de sitios para el desempeño de funciones básicas como la termorregulación, la movilidad, la alimentación y reproducción, provocando estrés y en el peor de los casos la muerte. No obstante, muchas especies de anfibios han resistido tales cambios, ya que a pesar de su limitada capacidad de dispersión y dependencia a ciertas condiciones del hábitat, han prevaleciendo a lo largo de la evolución. Aunque por otra parte diversos estudios han señalado que debido al corto tiempo e intensidad en que suceden estos cambios, los anfibios podrían no responder al mismo tiempo en que suceden estos cambios (Blaustein, 1994; Donnelly y Crump, 1998; Carey y Alexander, 2003; Wake y Vredenburg, 2008). Por ejemplo las variaciones de temperatura y humedad son señaladas como responsables de las rápidas disminuciones del sapo dorado (*Incilius periglenes* o *Bufo periglenes*) en Monteverde, Costa Rica, los cuales afirman se encontraban en sus límites fisiológicos a consecuencia de la falta de humedad (Pounds y Crump, 1994; Pounds *et. al.*, 1999).

En este sentido consideramos que los sapos de *Rhinella marina* estudiados en este trabajo, ofrecen diversas características que pueden servir de indicadores sobre los efectos de transformar el hábitat y/o variaciones de temperatura y humedad. Además debido a su abundancia y resistencia a cierto grado de perturbación, esta especie permite dilucidar patrones de uso de hábitat y entender una respuesta de como la transformación del hábitat en sinergia con las variaciones de temperatura y humedad, están reduciendo y/o modificando el tiempo y sitios óptimos de ocupación para especies nativas. Al mismo tiempo permite visualizar un panorama al cual muchas otras especies de anfibios se enfrentan o enfrentarán a nivel local e incluso a mayor escala.

Es claro que se necesitan estudios a largo plazo para conocer el efecto de la transformación del hábitat, en otras especies de anfibios, sobre todo cuando su abundancia puede ser baja, se observan en menor frecuencia o son de hábitos crípticos. Así mismo consideramos imprescindible evaluar como la perturbación del hábitat por actividades humanas, aunado a las variaciones ambientales influye de múltiples formas en procesos fisiológicos, conductuales, y reproductivos de anfibios, procesos que en ocasiones determinan su presencia o abundancia en hábitats específicos. Muchos de estos aspectos aún permanecen indeterminados, en este sentido nuestro estudio es un intento por generar respuesta a algunos de ellos.

X. Conclusiones

A pesar de que *Rhinella marina* es considerada una especie favorecida por las actividades humanas, consideramos que el acelerado ritmo en que suceden estos cambios en sinergia con las variaciones de temperatura y humedad local, están reduciendo y/o modificando la disponibilidad de sitios adecuados para este y otros anfibios en los Valles Centrales de Oaxaca. Consideramos que la reforestación de sitios perturbados es imprescindible para el establecimiento de *Rhinella marina* y otros anfibios, ya que la densidad de vegetación provee refugio e indirectamente alimento. Otra medida sería preservar inalterables los cuerpos de agua especialmente en zonas donde no se han llevado a cabo prácticas antrópicas de represamiento, ya que la modificación de los mismos puede alterar las condiciones del hábitat indispensables para la ocupación de anfibios nativos. De igual manera consideramos que se deben implementar herramientas para informar, involucrar y concientizar a los locatarios, sobre la conservación de cuerpos de agua y la calidad del hábitat alrededor de ellos; es probable que el mejoramiento de condiciones alrededor de las presas (aumento de vegetación, reducción de extracción de material pétreo) pueda mejorar las condiciones disponibles para los anfibios que hacen uso de ellas. Estas medidas pueden ayudar a mantener especies nativas de anfibios en sitios antropizados en un momento determinante para la sobrevivencia de estos organismos.

XI. Bibliografía

Agostinho, A. A., Pelicice, F. M., Gomes, L.C., (2008). *Dams and the fish fauna of the Neotropical region: impacts and management related to diversity and fisheries. Braz. J.Biol.*68 (4), 1119–1132.

Alford, R. A., y S. J. Richards (1999). *Global amphibian declines: a problem in applied ecology. Annual Review of Ecology and Systematics* 30:133-165.

Angilleta, M. J., Niewiarowski, P. h., y Navase, C. A. (2002). *The evolution of the thermal physiology in ectotherms. Journal of Thermal Biology* 27:249-268.

Baxter, R.M. (1977). *Environmental effects of dams and impoundments. Annu. Rev.Ecol.Syst.*, 255–283.

Beebee, T. J. C. y Griffiths R. A. (2005). *The amphibian decline crisis: A watershed for conservation biology? Biological Conservation*, 125, 271–285. doi:10.1016/j.biocon.2005.04.009

Begon M, J Harper y C Townsend (1990) *Ecology. Individuals, populations and communities. Blackwell Scientific Publications. USA. 945 pp*

Beletsky, L. (2007). *Southern Mexico: the Cancún Region, Yucatán Peninsula, Oaxaca, Chiapas, and Tabasco. An imprint of Interlink Publishing Group, Inc. Northampton, Massachusetts. Págs.487.*

Bernardo, J. y Spotila, J. (2006). *Physiological constraints on organismal response to global warming: mechanistic insights from clinally varying populations and implications for assessing endangerment. Biology Letters* 2:135-139.

Blaustein, A.R. (1994). *Chicken Little or Nero's fiddle? A perspective on declining amphibian populations. Herpetological* 50:85–97.

Blaustein, A.R. y Kiesecker, J.M. (2002). *Complexity in conservation: lessons from the global decline of amphibian populations. Ecology Letters* 5, 597–608.

Blaustein, A. R. y Kiesecker, J. M. (2003). *Ultraviolet radiation, toxic chemicals and amphibian population declines. Diversity and Distributions* 9, 123-140.

Blaustein, A. R. y Bancroft B. A. (2007). *Amphibian Population Declines: Evolutionary Considerations. BioScience, Vol. 57, No. 5, pp. 437-444.*

Blaustein, A. R., Walls, S. C., Bancroft, B. A., Lawler, J. J., Searle C. L. y Gervasi, S. S. (2010). *Direct and Indirect Effects of Climate Change on Amphibian Populations. Diversity, 2, 281-313.*

Blaustein, A. R., Han, B. A., Relyea, R. A., Johnson, P. T. J., Buck, J. C., Gervasi, S. S. y Kats, L. B. (2011). *The complexity of amphibian population declines: understanding the role of cofactors in driving amphibian losses. Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1223, 108–119.

Brattstrom, B. H. (1979). *Amphibian temperature regulation studies in the field and in the laboratory. American Zoologist* 19: 345-356.

- Carey et al., (2001). *Amphibian Declines and Environmental Change: Use of Remote-Sensing Data to Identify Environmental Correlates*. *Conservation Biology*, Pp. 903-913. Volume 15, No. 4.
- Carey, C. y Alexander, M.A. (2003). *Climate change and amphibian declines: is there a link?* *Diversity and Distributions* 9, this issue.
- Cavallini, P. 1996. *Comparison of body condition indices in the red fox (Fissipedia, Canidae)*. *Mammalia* 60: 449 – 462.
- Collins, J.P. y Storfer, A. (2003). *Global amphibian decline: sorting the hypotheses*. *Diversity and Distributions* 9:89-98.
- Collins, J.P. y Crump, M.L. (2009). *Extinction in our times: Global amphibian decline*. Oxford University Press, Inc. Pág. 23-24
- Comisión Nacional Forestal (2011). *Inventario Nacional Forestal y de Suelos: Manual y procedimientos para el muestreo de campo*.
- Cooke, A.S. (1988). *Mortality of toads (Bufo bufo) on roads near a Cambridge shire breeding site*. *Brit. Herpetol. Soc.* 26: 29–30.
- Cowles, R.B. y Bogert, C.M. (1944). *A preliminary study of the thermal requirements of desert reptiles*. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 83, 261–296.
- Daszak, P., A. Cunningham y A.D. Hyatt. (2003). *Infectious disease and amphibian population declines*. *Diversity and Distributions* 9:141-150.
- Denton, J. S., y T. J. C. Beebee (1993). *Summer and winter refugia of natterjacks (Bufo calamita) and common toads (Bufo bufo) in Britain*. *Herpetol. J.* 3: 90-94.
- Deutsch, C. A., Tewksbury, J. J., Huey, R. B., Sheldon, K. S., Ghalambor, C. k., D. C. y Martin, P. R. (2008). *Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude*. *PNAS* 105:6668-6672.
- Diamond, S. E., Sorger, D. M., Hulcr, J., Pelini, S. L., Del Toro, I., Hirsch, C., Oberg, E. y Dunn, R. R. (2011) *Who likes it hot? A global analysis of the climatic, ecological, and evolutionary determinants of warming tolerance in ants*. *Glob. Change Biol.* 18, 448–456. (doi:10.1111/j.1365-2486.2011.02542.x)
- Donnelly, M. A., y M. L. Crump. (1998). *Potential effects of climate change on two Neotropical amphibian assemblages*. *Climate Change* 39:541-561.
- Duellman, W. E y Linda Trueb. (1994). *Biology of amphibians*. Johns Hopkins University Press, Baltimore. Pags. 6960
- Duarte, H., Tejedo, M., Katzenberger, M., Marangoni, F., Baldo, Diego., Beltrán, J. F., Marti, D. A., Boix, R. A. y Voyer, G. A. (2012). *Can amphibians take the heat? Vulnerability to climate warming in subtropical and temperate larval amphibian communities*. *Global Change Biology*. 18, 412–421, doi: 10.1111/j.1365-2486.2011.02518.x.

- Duellman, W. E y Linda Trueb (1994). *Biology of amphibians*. Johns Hopkins University Press, Baltimore. Pp. 670
- Elzinga, C. L., et al. (1998). *Measuring and Monitoring Plant Populations*. Bureau of Land Management. Denver, CO, BLM Technical Reference 1730-1.
- Flores-Villela, O. (1993). *Herpetofauna Mexicana*. Carnegie Mus. Nat. Hist. Spec. Pub.1.17.iv. Pp73.
- Freeland, W. J., y S. H. Kerin. (1988). *Within-habitat relationships between invading Bufo marinus and Australian species of frog during the tropical dry season*. Aust. Wild. Res. 15:293-305.
- González-Bernal, E., Brown, P. G., Crowther, S. Mathew., y Shine, R. (2015). *Sex and age differences in habitat use by invasive cane toads (Rhinella marina) and a native anuran (Cyclorana australis) in the Australian wet-dry tropics*. Austral Ecology. doi: 10.1111/aec.12279.
- Hazell, Donna., Hero, M.J., Lindenmayer, D. y Cunningham, R. (2004). *A comparison of constructed and natural habitat for frog conservation in an Australian agricultural landscape*. Biological Conservation, 119:61-71.
- Heatwole, Harold (1966) *The Effect of Man on Distribution of Some Reptiles and Amphibians in Eastern Panama*. Herpetologica, 22(1):55-59.
- Heyer, W. R., M. A. Donnelly, R. W. McDiarmid, L. C. Hayek, y M. S. Foster.(1994). *Measuring and monitoring biological diversity: Standard methods for amphibians*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC.
- Hillman, S. S., Withers, P. C., Drewes, R. C. y Hillyard, S. D. (2009). *Ecological and Enviromental Physiology of Amphibians*. Oxford University Press. Vol 1. Estados Unidos de America United States-New York. Págs. 488.
- Hill, W. R (2007). *Fisiología Animal Comparada: Un enfoque ambiental*. Editorial Reverté, S. A. Impreso en España. Pags. 905.
- Huey, R. B., Kearney, M. R., Krockenberger, A., Holtum., J. A. M., Jess., Mellissa y Williams., S. E. (2012). *Predicting organismal vulnerability to climate warming: roles of behavior, physiology and adaptation*. Phil. Trans. R. Soc.367, 1665-1679. doi: 10.1098/rstb.2012.0005.
- IPCC (Grupo de Expertos Sobre Cambio Climático) 2013. *Cambio Climático Bases físicas; Resumen para responsables de políticas: GRUPO DE TRABAJO I CONTRIBUCIÓN DEL GRUPO DE TRABAJO I AL QUINTO INFORME DE EVALUACIÓN DEL GRUPO INTERGUBERNAMENTAL DE EXPERTOS SOBRE EL CAMBIO CLIMÁTICO*. Impreso por el Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC) (Suiza).
- Jennings, M. R. (1988). *Natural history and decline of native ranids in California*. In R. F. De Lisle, P. R. Brown, B. Kaufman, and B. M. McGurty (eds.), *Proceedings of the Conference on California Herpetology*, pp. 61-72. Southwestern Herpetol. Soc., Van Nuys, California.

- Kats, L.B. y Ferrer, R.P. (2003). Alien predators and amphibian declines. *Diversity and Distributions* 9, this issue.
- Kent, M. y Coker, P. (1992). *Vegetation description and analysis. A practical approach*. Wiley, Nueva York.
- Knutson, M. G., J. R. Sauer, D. A. Olsen, M. J. Mossman, L. M. Hemesath, and M. J. Lannoo (1999). Effects of landscape composition and wetland fragmentation on frog and toad abundance and species richness in Iowa and Wisconsin, U.S.A. *Conservation Biology* 13:1437– 1446.
- Krakauert, T. (1970). Tolerance limits of the toad, *Bufo marinus*, in south Florida. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 33:15-26.
- Lannoo, Michael (2005). *Amphibian declines: The conservation status of United States species*. University of California Press, Berkeley and Loss Angeles, California. Pp. 1094
- Laurance, W. E, y R. O. Bierregaard Jr. (1997). *Tropical forest remnants - Ecology, management and conservation of fragmented communities*. University of Chicago Press, Chicago, Illinois.
- Lemos-Espinal, J.A. (2001). *Anfibios y Reptiles de la Región Terrestre Prioritaria (31): sierra Alamos – el Cachujaqui, Sonora, Ecorregión Terrestre de México 14.3.2.1 Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Informe Final SNIB-CONABIO. Proyecto GT020. México, D.F.*
- Licht, P y Bennett A. F. (1972). A Scaleless Snake: Tests of the Role of reptilian Scales in Water Loss and Heat Transfer. *COPEIA*. No. 4. Pp. 702-707.
- Lima, A.P. & W.E. Magnusson. (1998). Partitioning seasonal time: interactions among size, foraging activity and diet in leaf-litter frogs. *Oecologia* 116: 259-266
- Lind, A. J., Welsh Jr, H. H. y Wilson, A. (1996). The effects of a damon breeding habitat and egg survival of the foothill yellow-legged frog (*Ranaboylii*) in NorthwesternCaliforniaH. *erp. Rev.2* 7: 62-67.
- Lips, K. R., Diffendorfer, J., Mendelson, Jr III., y Sears, M.W. (2008). Riding the wave: Reconciling the roles of disease and climate change in amphibian declines. *PLoS Biol* 6(3): e72. doi:10.1371/journal.pbio.0060072.
- Lobo, J.M., Martin-Piera, F., y Veiga, C.M (1988). Las trampas pitfall con cebo, sus posibilidades en el estudio de las comunidades coprófagas de Scarabaeoidea (Col.). *Rev. Écol.Biol.Sol*, 25(1): 77-100
- Lutterschmidt, W.I., and Hutchison, V.H. (1997). The critical thermal maximum: history and critique. *Can. J. Zool*. 75:1561-1574.
- MacArthur, R. H y Levins, R. (1967). The limiting similarity, convergence and divergence of coexisting species. *American Naturalist* 101:377–385.
- Malvin, M. G. y Wood, C. Stephen (1991). Behavioral Themnoregulation of the Toad, *Bufo marinus*: Effects of Air Humidity. *THE JOURNAL OF EXPERIMENTAL ZOOLOGY* 258:322-326.

- Matthews, R.W. y Matthews, J. R. (2010). *Insect Behavior*. 2da. Edicion. Springer. London. Págs. 519.
- Navas, C. A. (1996). *Implications of microhabitat selection and patterns of activity on the thermal ecology of high elevation neotropical anurans*. *Oecologia* 108:617-626.
- Navas, C. A., y C. Araujo (2000). *The use of agar models to study amphibian thermal ecology*. *Journal of Herpetology* 34:330-334.
- Parra Olea G, Flores-Villela, O. y Mendoza, Almeralla C. (2014). *Biodiversidad de Anfibios en México*. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. DOI 10.7550/rmb.32027: (460,462-463,465).
- Pearman, B. P. (1996). *Correlates of Amphibian Diversity in an Altered Landscape of Amazonian Ecuador*. *Conservation Biology*. 11:1211-1225.
- Pearson, O. P. y Bradford, D. F. (1976). *Thermoregulation of lizards and toads at high altitudes m Peru* *Copeia* 1976, 155-170.
- Pizzato, L y Shine, R. (2008). *The behavioral ecology of cannibalism in cane toad (Bufo marinus)* *Behavioral Ecology Sociobiology* 63:123-133.
- Pough, F. H., Taigen, T. L., Stewart, M. M. y Brussard, P. F. (1983). *Behavioral modification of evaporative water loss by a Puerto Rican frog*. *Ecology* 64 (2): 244-252.
- Pounds, J.A. y Crump, M.L (1994). *Amphibian declines and climate disturbance: the case of the golden toad and the harlequin frog*. *Conservation Biology* 8:72–85.
- Pounds, J.A., M.P.L. Fogden y J.H. Campbell (1999). *Biological response to climate change on a tropical mountain*. *Nature* 398:611–615.
- Preest, M. R. y Pough, F. H. (1989). *Interaction of temperature and Hydration on Locomotion of Toads*. *Functional Ecology*, Vol 3. No. 6, pp. 693-699.
- Procházka, J., Brom., J., S't'astny', J. y Pecharová, E. (2011). *The impact of vegetation cover on temperature and humidity properties in the reclaimed area of a brown coal dump*. *International Journal of Mining, Reclamation and Enviroment*. doi. 10.1080/17480930.
- Reiners, W. A., Bowman, A. F., Parsons, W. F. J. y Keller, M. (1994). *Tropical Rain Forest conversion to pasture: changes in vegetation and soil properties*. *Ecological Applications*, 4:363-377.
- Riley, D.P. Seth., Busteed, T. Gary., Kats, B. Lee., Vandergon, L. Thomas., Lee, F. S. Lenas., Dagit, G. Rosi., Kerby, L. Jacob., Fisher, N. Robert y Sauvajot, M. Raymond (2005). *Effects of Urbanization on the Distribution and Abundance of Amphibians and Invasive Species in Southern California Streams*. *Conservation Biology*, 1894-1907
- Rome, L.C., Stevens, E.D. y John-Alder, H.B. (1992). *The influence of temperature and thermal acclimation on physiological function*. *Environmental physiology of the amphibia*(ed. by M.E. Feder and W.W. Burggren), pp. 183–205. University of Chicago Press, Chicago.

- Rothermel, B.B. y Semlitsch, R.D. (2002). An experimental investigation of landscape resistance of forest versus old-field habitats to emigrating juvenile amphibians. *Conservation Biology* 16, 1324–1332.
- Ruibal, R., y S. Hillman (1981). Cocoon structure and function in the burrowing frog, *Pterohyla fodiens*. *J. Herpetology* 15:403-408.
- Schwarzkopf, L. y R. A. Alford. (1996). Desiccation and shelter-site use in a tropical amphibian: comparing toads with physical models. *Functional Ecology* 10:193-20
- Seabrook, W. A., y E. B. Dettman (1996). Roads as activity corridors for cane toads in Australia. *J. Wild. Manage.* 60:363-368.
- Seebacher, F., y R. A. Alford (1999). Movement and microhabitat use of a terrestrial amphibian (*Bufo marinus*) on a tropical island: seasonal variation and environmental correlates. *Journal of Herpetology* 33:208-214.
- Seebacher, F. y Alford, R. A. (2002). Shelter Microhabitats Determine Body Temperature and Deshydration Rates of a Terrestrial Amphibian (*Bufo marinus*). *Journal of Herpetology*. Vol. 36. No.1, pp. 69-75
- Semarnat. 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. Protección ambiental - Especies nativas de México de flora y fauna silvestres - Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio - Lista de especies en riesgo. *Diario Oficial de la Federación*. 2010 (30 de diciembre).
- Sexton, Owen J., Harold Heatwole, y Dennis Knight (1964). Correlation of Microdistribution of Some Panamanian Reptiles and Amphibians with Structural Organization of the Habitat. *Caribbean Journal of Science*, 4(1):261-295.
- Seymour, R. S. y Lee, A. K. (1974). Physiological Adaptation of Anuran Amphibians to Aridity: Australian Prospects. *The Australian Zoologist*, 18(2):53-63.
- Shoemaker, V.H., y Nagy, K.A. (1977). Osmoregulation in amphibians and reptiles. *Annu. Rev. Physiol.*, 39:449-471.
- Shoemaker, V. H., S. S. Hillman, S. D. Hillyard, D. C. Jackson, L. L. McClanahan, P. C. Withers y M. Wygoda. (1992). Exchange of water, ions, and respiratory gases in terrestrial amphibians. In *Environmental physiology of the amphibians*, ed. M. E. Feder and W. W. Burggren, 125–50. Chicago: University of Chicago Press.
- Schoener, T. W. (1982). The controversy over interspecific competition. *American Scientist* 70:586–595.
- Schulte-Hostedde, A.I., Zinner, B., Millar, S.J. y Hickling, G.J. (2005): Restitution of mass-size residuals: validating body condition index. *Ecology* 86: 155-163.
- Sievert, L. M (1991). Thermoregulatory behavior in the toads *Bufo marinus* and *Bufo cognatus*. *J. therm. Bzol.* Vol 16, No 5, pp 309-312.
- Sinervo B, Méndez de la Cruz F, Miles DB et al. (2010). Erosion of lizard diversity by change and altered thermal niches. *Science*, 328, 894–899.

Snyder, G.K. y Weathers, W.W. (1975). *Temperature adaptations of amphibians*. *American Naturalist* 109, 93–101.

Spotila, J. R. y Berman, e. N. (1976). *Determination of skin resistance and the role of the skin in controlling water loss in amphibians and reptiles*. *Biochem physiology* 55A: 407-411.

Stuart, S., et al. (2004). *Status and trends of amphibian declines and extinction worldwide*. *Science* 306:1783–1786.

Sztatecsny, M. y Schabetsberger, R. (2005): *Into thin air: vertical migration, body condition, and quality of terrestrial habitats of alpine common toads, Bufo bufo*. *Can. J. Zool.* 83: 788-796.

Tingley, R., Greenlees, J. R., Shine. R. (2012). *Hydric balance and locomotor performance of an anuran (Rhinella marina) invading the Australian arid zone*. *Oikos*. 1600-0706

Tracy, C. R., Keith, A. C. y Tracy, R. (2010). *Not just small, wet, and cold: effects of body size and skin resistance on thermoregulation and arboreality of frogs*. *Ecological Society of America*. Vol. 91, No. 5. pp1477-1484.

Tracy, C. R. (1976). *A model of the dynamic exchanges of water and energy between a terrestrial amphibian and its environment*. *Ecological Monographs* 46:293-326.

Tundisi, J. G. (1996). *Reservoirs as complex systems*. *Ciencia e Cultura*:48: 383-387.

Vitt, L.J., Caldwell, J. P. M. Wilbur, y Smith, D. C. (1990). *Amphibians as harbingers of decay*. *BioScience* 40: 418.

Wake, D. y V. Vredenburg (2008). *Are we in midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105:11466-11473.

Wells, K. D. (2007). *The Ecology & Behavior of Amphibians*. *The University of Chicago Press*. Chicago and London. Pags. 1148

Withers, P. C., Hillman, S.S. y Drewes, R. C. (1984). *Evaporative Water Loss and Skin Lipids of anuran amphibians*. *The Journal of Experimental Zoology*, 232:11-17.

Wogel, H., P. A. Abrunhosa, y J. P. Pombal, Jr. (2005). *Vocalizations and aggressive behavior of Phyllomedusa rohdei (Anura: Hylidae)*. *Herp. Rev.* 35:239–43.

Wygoda, M. L. (1984). *Low cutaneous evaporative water loss in arboreal frogs*. *Physiological Zoology* 57:329-337.

Wygoda, M. L. (1988). *Adaptive control of water loss resistance in an arboreal frog*. *Herpetologica* 44:251- 257.

Zug, R. G. y Zug, B. P. (1989). *The Marine Toad, Bufo marinus. A Natural History Resume of Native Populations*. SMITHSONIAN INSTITUTION PRESS. City of Washington. Pags. 58

Sitios Web

- Amphibia web: Information on Amphibian Biology and Conservation. Available at <http://amphibiaweb.org/>. Accessed December 16, 2007.
- www.archives.gov/federal-register
- www.conafor.gob.mx
- www.finanzasoaxaca.gob.mx/ pdf. Plan Municipal de Desarrollo 2008-2010 Santa Inés del Monte, Zaachila, Oax.
- www.gob.mx/sagarpa
- www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/datos-geograficos/20/20565.pdf
<https://insoaxaca.wordpress.com/>
- www.profepa.gob.mx
- www.uicn.es/lista-roja-uicn-2009-de-especies-amenazadas-biodiversidad-en-peligro/
- www.union.org.mx/agua/novedades/alianzaagua/Grandes%20Obras%20de%20Infraestructura%20hidro%20ulica. Pdf

Anexo 1. Modelos de agar



Modelos de agar bajo el tratamiento sol - seco y sol -húmedo (1), y sombra - seco (2)



Modelos de agar de juveniles y adultos (3)