



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

**Centro Interdisciplinario de Investigación para el
Desarrollo Integral Regional Unidad-Oaxaca**

**Maestría en Ciencias en Conservación y
Aprovechamiento de Recursos Naturales
(Biodiversidad del Neotrópico)**

**“Respuesta de larvas de rana manchada (*Lithobates spectabilis*) ante
la presencia de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*)”**

**TESIS:
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS**

**PRESENTA:
BIOL. CARLOS ALBERTO FLORES HERNÁNDEZ**

**DIRECTORA:
DRA. EDNA LETICIA GONZÁLEZ BERNAL**

Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS Y DESIGNACIÓN DE DIRECTOR DE TESIS

Ciudad de México, 30 de mayo del 2022

El Colegio de Profesores de Posgrado de **CIIDIR UNIDAD OAXACA** en su Sesión
(Unidad Académica)

ordinaria No. 05 celebrada el día 18 del mes mayo de 2020, conoció la solicitud presentada por el alumno:

Apellido Paterno:	Flores	Apellido Materno:	Hernández	Nombre (s):	Carlos Alberto
-------------------	--------	-------------------	-----------	-------------	----------------

Número de registro: A 1 8 0 2 2 8

del Programa Académico de Posgrado: Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales.

Referente al registro de su tema de tesis; acordando lo siguiente:

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:

"Respuesta de larvas de rana manchada (*Lithobates spectabilis*) ante la presencia de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*)"

Objetivo general del trabajo de tesis:

Evaluar el impacto del establecimiento a lo largo de arroyos de granjas de trucha arcoíris (*O. mykiss*) sobre el comportamiento de larvas de rana leopardo (*L. spectabilis*).

2.- Se designa como Directora de Tesis a la profesora:

Directora: Dra. Edna Leticia González Bernal 2° Director:

No aplica:

3.- El Trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por el alumno en:

El Laboratorio de Ecología de Anfibios del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca.

que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente, hasta la aprobación de la versión completa de la tesis por parte de la Comisión Revisora correspondiente.

Directora de Tesis

Dra. Edna Leticia González Bernal

Aspirante

Flores Hernández Carlos Alberto

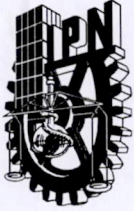
2° Director de Tesis (en su caso)

Presidente del Colegio

Dr. Salvador Isidro Belmonte Jiménez



ESTADOS UNIDOS MEXICANOS
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
UNIDAD OAXACA



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de siendo las horas del día del mes de del se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada

por el Colegio de Profesores de Posgrado para examinar la tesis titulada:

"Respuesta de larvas de rana manchada (*Lithobates spectabilis*) ante la presencia de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*)"

del alumno:

Apellido Paterno:	Flores	Apellido Materno:	Hernández	Nombre (s):	Carlos Alberto
-------------------	--------	-------------------	-----------	-------------	----------------

Número de registro:

Aspirante del Programa Académico de Posgrado:

Una vez que se realizó un análisis de similitud de texto, utilizando el software antiplagio, se encontró que el trabajo de tesis tiene 1 % de similitud. **Se adjunta reporte de software utilizado.**

Después que esta Comisión revisó exhaustivamente el contenido, estructura, intención y ubicación de los textos de la tesis identificados como coincidentes con otros documentos, concluyó que en el presente trabajo **SI** **NO** **SE CONSTITUYE UN POSIBLE PLAGIO.**

JUSTIFICACIÓN DE LA CONCLUSIÓN: (Por ejemplo, el % de similitud se localiza en metodologías adecuadamente referidas a fuente original)

El 1% coincide con frases comúnmente usadas en el tema de investigación.

****Es responsabilidad del alumno como autor de la tesis la verificación antiplagio, y del Director o Directores de tesis el análisis del % de similitud para establecer el riesgo o la existencia de un posible plagio.**

Finalmente, y posterior a la lectura, revisión individual, así como el análisis e intercambio de opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR** **SUSPENDER** **NO APROBAR** la tesis por **UNANIMIDAD** o **MAYORÍA** en virtud de los motivos siguientes:

Cumple con los requisitos necesarios.

COMISIÓN REVISORA DE TESIS

Dra. Edna Leticia González Bernal
Director de Tesis
Nombre completo y firma

Dr. Emilio Martínez Ramírez
Nombre completo y firma

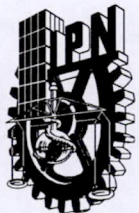
Dr. José Antonio Santos Moreno
Nombre completo y firma

Dr. Marcelo Ulises García Guerrero
Nombre completo y firma

Dr. José Roberto Sosa López
Nombre completo y firma

Dr. Salvador Isidro Belmonte Jiménez
Nombre completo y firma

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
UNIDAD OAXACA



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE USO DE OBRA PARA DIFUSIÓN

En la Ciudad de México el día 22 del mes de junio del año 2022, el que suscribe **Flores Hernández Carlos Alberto** alumno del programa de **Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales** con número de registro **A180228**, adscrito a Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de tesis bajo la dirección de la **Dra. Edna Leticia González Bernal** y cede los derechos del trabajo intitulado "**Respuesta de larvas de rana manchada (*Lithobates spectabilis*) ante la presencia de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*)**", 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 expresado del autor y/o directora. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección de correo: carlosfloresh88@gmail.com. Si el permiso se otorga, al usuario deberá dar agradecimiento correspondiente y citar la fuente de este.



Flores Hernández Carlos Alberto
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
UNIDAD OAXACA

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca 892434 que me permitió realizar mis estudios de maestría.

Al proyecto CONACYT-Ciencia Básica: “Estado de las poblaciones de anfibios en relación a cambios diferenciales de hábitat en bosques mesófilos de la Sierra Norte de Oaxaca, México” ID: 256071.

A mi directora de tesis Dra. Edna González Bernal

Al Dr. Michael Crossland

A la comisión revisora de tesis: Dr. Emilio Martínez Ramírez, Dr. Marcelo Ulises García Guerrero, Dr. José Antonio Santos Moreno, Dr. José Roberto Sosa López.

A mis compañeros del Laboratorio de Ecología de Anfibios del CIIDIR-Oaxaca: Medardo Arreortúa, Tereso López García, Hermes Dionicio Santiago, María José Sánchez.

A los profesores de la Maestría en Ciencias.

Al personal Administrativo del CIIDIR-Oaxaca.

A mi familia y amigos por todo el apoyo brindado.

En memoria de Eugui Roy Martínez Pérez.

Tabla de contenidos

Lista de figuras	4
Lista de tablas.....	4
RESUMEN	5
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN	7
ANTECEDENTES	11
Efectos negativos de peces exóticos sobre larvas de anuros	11
Depredación y señales visuales.....	11
Señales Químicas.....	11
Respuestas de larvas de anuros.	12
Impacto de la introducción de trucha arcoíris en anfibios del neotrópico	13
HIPÓTESIS.....	15
OBJETIVOS	15
Objetivo general.....	15
Objetivos específicos.....	15
MÉTODOS.....	16
Especies de estudio	16
<i>Oncorhynchus mykiss</i> Walbaum, 1792.....	16
<i>Lithobates spectabilis</i> Hills y Frost, 1985.....	17
Obtención y mantenimiento de organismos	17
<i>Lithobates spectabilis</i> (Hills y Frost, 1985)	17
<i>Oncorhynchus mykiss</i> Walbaum, 1792.....	19
EXPERIMENTOS	20
Experimento 1: Efecto de señales químicas.....	20
Experimento 2: Efecto de señales visuales	22
Experimento 3: Crecimiento y desarrollo	24
Análisis de datos.....	26
Experimento 1: Efecto de señales químicas.....	26
Experimento 2: Efecto de señales visuales	26
Experimento 3: Crecimiento y desarrollo	26
RESULTADOS	28
Experimento 1: Efecto de señales químicas.....	28

Experimento 2: Efecto de señales visuales	29
Experimento 3: Crecimiento y desarrollo	30
DISCUSIÓN.....	30
CONCLUSIÓN	35
REFERENCIAS.....	36

Lista de figuras

Figura 1. Localización del paraje La Nevería.	20
Figura 2. Sistema de flujo gravitacional.	22
Figura 3. Cámara para evaluar el comportamiento de renacuajos ante la detección visual.	23
Figura 4 Distribución de contenedores para el experimento de crecimiento y desarrollo.	25
Figura 5 Proporción de larvas refugiadas ante la detección de la señal química emitida por la trucha.	28
Figura 6 Proporción de renacuajos en la sección lejana de la cámara de pruebas.	29

Lista de tablas

Tabla 1 Modelos para el análisis de experimentos.	27
--	----

RESUMEN

Las especies exóticas invasoras son la segunda causa a nivel mundial de la pérdida de biodiversidad. Una especie comúnmente introducida en México como alternativa económica, de consumo humano, y altamente invasora, es la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Las granjas del cultivo de este salmónido han sido establecidas en hábitats donde ocurren anfibios nativos pero su impacto ha sido poco estudiado. Por medio de experimentos controlados en laboratorio se estudió la respuesta conductual de larvas de la rana manchada (*Lithobates spectabilis*) en contacto con una señal química, estímulo visual y exposición prolongada a señales emitidas por una trucha arcoíris. Los resultados muestran que las señales químicas emitidas por este salmónido, las cuales son transportadas por el agua, provocan que las larvas se refugien en mayor proporción, que cuando estas señales no están presentes. Las larvas son capaces de detectar visualmente a una trucha y en consecuencia se alejan de ésta. Al medir el efecto de la exposición prolongada de las larvas a la señal química y la interacción de la densidad de renacuajos sobre el crecimiento y desarrollo de las larvas, no se encontraron diferencias significativas que indiquen cambios debidos a los tratamientos. Debido a que el cultivo de trucha arcoíris en estanques aledaños a arroyos de los que se extrae agua para dichos cultivos, tiene como consecuencias inmediatas: 1) la liberación de los desechos propios de las granjas al mismo cuerpo de agua y 2) el escape de truchas debido a la falta de sistemas de seguridad efectivos. Se concluye que estos dos procesos generan condiciones ambientales que producen cambios de comportamiento en las larvas de la rana manchada. Finalmente, el hecho de que el área distribución de la rana manchada se sobrelape con los sitios donde se cultiva trucha arcoíris en el país, podría tener efectos a gran escala sobre esta especie de anfibio.

ABSTRACT

Exotic invasive species are the second leading cause of biodiversity loss worldwide. One species commonly introduced in Mexico as an economic alternative for human consumption and that has been proven to be highly invasive is the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Farms for the cultivation of this salmonid have been established in habitats where native amphibians occur and their impact has been little studied. Through controlled laboratory experiments, the behavioral responses of spotted frog (*Lithobates spectabilis*) larvae when they came into contact with a chemical signal, a visual stimulus and prolonged exposure to signals emitted by a rainbow trout were studied. The results show that the chemical signals emitted by this salmonid which are transported by the water caused the tadpoles to take refuge to a greater extent than when these signals are not present. Likewise, the larvae can visually detect a trout and consequently move away from it. When measuring the effect of prolonged exposure to a chemical signal and the interaction of it with tadpole density on larval growth and development, no significant differences indicating changes due to treatments were found. As rainbow trout culture in farms adjacent to streams has as immediate consequences: 1) the release of waste from the farms to the same body of water and 2) the escape of trout due to the lack of effective security systems, it is concluded that they generate environmental conditions that produce behavioral changes in the larvae of this amphibian species. Finally, the fact that the distribution area of the spotted frog overlaps with the sites where rainbow trout is farmed in the country, could have large-scale effects on this amphibian species.

INTRODUCCIÓN

Las poblaciones de anfibios están disminuyendo debido a la transformación del hábitat, cambio climático, enfermedades emergentes y las especies exóticas invasoras (EEI) principalmente. En este contexto, se ha documentado que las EEI son la segunda causa principal de pérdida de biodiversidad (Kats y Ferrer, 2003; Stuart et al., 2004; Whittaker *et al.*, 2013). Los efectos negativos directos más estudiados de las EEI sobre las poblaciones de anfibios nativos son la depredación y la competencia por el hábitat. Estos efectos son de mayor importancia cuando se trata de especies que por sus características biológicas, requieren de las mismas condiciones ambientales que requieren los anfibios (Kats y Ferrer, 2003; Bucciarelli *et al.*, 2014; Falaschi *et al.*, 2020). Se ha demostrado que las poblaciones de anuros son a menudo menores o han sido extirpadas de diversos cuerpos de agua donde peces depredadores han sido introducidos (Pilliod *et al.*, 2010). Este patrón se puede observar en los lugares montañosos donde los peces se encontraban ausentes hasta la introducción de estos por humanos, en este sentido, la depredación es el mecanismo más común por el cual, salmónidos no nativos han suprimido poblaciones de anfibios (Pilliod *et al.*, 2010). Es de gran importancia saber que las poblaciones de anfibios son mucho más vulnerables en su estado larval, que es acuático y es en esta fase donde ocurre la mayor presión por efectos directos por EEI, particularmente peces (Beker *et al.*, 2008; Falaschi, 2020).

Sin embargo, con las EEI se han encontrado efectos indirectos que no son tan evidentes y que afectan negativamente las poblaciones de anfibios. Por ejemplo, se sabe que existe especies de pastos exóticos invasores que contribuyen a la proliferación de arácnidos depredadores de metamórficos (DeVore y Maerz, 2014). También se sabe de especies invasoras de peces que se alimentan de larvas

acuáticas de insectos, las cuales al llegar al estado adulto representan una fuente de alimento para anfibios (Joseph et al., 2011).

Uno de los grupos de vertebrados que comúnmente se han trasladado y se han convertido en invasores exitosos son los peces (Courtenay, 1974; Mills *et al.*, 1993; García, 2000). Los peces han sido considerados en planes con potenciales beneficios para el ser humano (Moyle, 1976; García-Berthou y Moreno-Amich, 2000; Elvira y Almodovar, 2001), pero con el tiempo, han mostrado efectos negativos sobre organismos nativos como los anfibios (Adams, 2000; Gillespie, 2000). Por ejemplo, pueden ser vectores de enfermedades fúngicas que provocan altas tasas de mortalidad en huevos de anfibios (Martín-Torrijos *et al.*, 2016) o actuar como depredadores de sus larvas, provocando así la extirpación de anfibios en cuerpos de agua donde antes no había peces (Nunes *et al.*, 2019). Uno de estos casos es la introducción de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en varios lugares del mundo principalmente con fines de acuicultura (Crawford y Muir, 2007). La trucha introducida puede influir negativamente en organismos de sistemas acuáticos a nivel individual, de población, de comunidad y de ecosistema, acelerando la disminución de la riqueza de la fauna.

A pesar de sus efectos negativos, durante los últimos 20 años la acuicultura ha experimentado un crecimiento anual del 5.3% a nivel mundial. En 2018, se produjeron 114.5 millones de toneladas de animales vivos en los cinco continentes, de los cuales 47 millones de toneladas fueron peces de cultivo continental. De estas, el 90% están representadas por 27 especies, entre las que se encuentran la Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), la carpa común (*Cyprinus carpio*) y la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) (FAO, 2020). En México, el cultivo de la trucha arcoíris es de gran importancia económica y se ha desarrollado desde 1885 (García-Mondragón *et al.*, 2013). Para el 2014 se informó que se produjeron 1,465,870.175 toneladas a nivel nacional (CONAPESCA, 2014). En el país es común la existencia de esta práctica en estados con gran riqueza de anfibios nativos, como es el caso de Oaxaca, el estado con mayor diversidad de anfibios a nivel nacional (Parra-Olea, 2014).

Algunos de los efectos negativos conocidos de la trucha introducida incluyen: depredación directa de huevos (Gall y Mathis, 2010) y larvas (Gillespie, 2001) cambios en la morfología de las larvas e infecciones fúngicas de los embriones (Martín-Torrijos *et al.*, 2016), cambios en el desarrollo (Kenison *et al.*, 2016), desplazamiento y competencia por hábitat (Miró y Ventura, 2018; Zamora *et al.*, 2018; Bosch *et al.*, 2019; Miloch *et al.*, 2020) y alimento (Joseph *et al.*, 2011) o cambios de comportamiento, distribución, abundancia y ocupación de larvas de anfibios (Matthews *et al.*, 2001; Bosch *et al.*, 2006; Velasco *et al.*, 2017).

Sin embargo, poco se ha estudiado con relación a los posibles efectos negativos que las granjas de truchas tienen por sí mismas sobre los anfibios nativos, a pesar de que se sabe que impactan negativamente en los ecosistemas acuáticos (Camargo y Gonzalo, 2007). Las granjas generan efluentes que pueden alterar las características físicas y químicas del agua donde se encuentran establecidas y, a su vez, tienen el potencial de alterar las comunidades acuáticas (Sosa-Villalobos *et al.*, 2016; Krynak *et al.*, 2020; Preston y Lamb, 2021).

La presencia de un criadero de truchas puede impactar en dos niveles: alterando el nivel natural del agua de los arroyos y liberando productos químicos al medio ambiente causando procesos de eutroficación (Cruz-Castro *et al.*, 2011). En el diseño de granjas establecidas al lado de arroyos en México, las granjas de truchas extraen agua de una corriente fría y fuerte hacia la granja. El agua pasa por varios estanques de truchas oxigenando y enfriando el agua del sistema, luego es liberada nuevamente al mismo arroyo sin pasar por ningún tratamiento (Hernández y Carrillo, 2018). Esta actividad tiene dos consecuencias diferentes: primero saca y desvía el agua del río y segundo libera esa cantidad de agua a unos metros del punto de extracción, generalmente con mayor velocidad y conteniendo todos los residuos generados en la granja incluidas truchas y sus propios desechos químicos incluidas feromonas (Camargo y Gonzalo, 2007).

Se considera que los productos químicos de las truchas pueden activar los sistemas innatos de reconocimiento de depredadores de las larvas de anuros. Tal y como en aquellos sistemas donde presas y depredadores han coevolucionado, permitiendo a

las presas desarrollar respuestas antipredatorias (Gall y Mathis, 2010). Algunas de las respuestas anti-predatorias que presentan las larvas de anfibios son: motilidad reducida, coloración críptica, repelentes químicos, cambios en los patrones de actividad, selección de sitios lejos de depredadores, reconocimiento de señales químicas, visuales y acústicas de depredadores o una mezcla de dos o más métodos de defensa (Petranka y Sih, 1987; Hamer *et al.*, 2002, Hettyey, 2012).

El comportamiento de refugiarse o reducir la motilidad como respuesta anti-predatoria que presentan algunos renacuajos ante la detección de un potencial depredador, es factible de evaluar mediante experimentos controlados (Petranka y Sih, 1987). Este comportamiento desencadenado por la presencia de un depredador puede detonar cambios morfológicos que pueden comprometer el desarrollo y aumentar la susceptibilidad a parásitos en larvas de ránidos (Thienmann y Wassersug, 2000). Así mismo, disminuir la actividad y/o refugiarse para reducir el riesgo de depredación, limita su capacidad de forrajeo y altera sus tasas de crecimiento (Skelly y Werner, 1990; Lima, 1998).

Debido a que la distribución de la rana manchada y los sitios donde se cultiva trucha arcoíris en México se traslapan, los resultados obtenidos en esta investigación son de relevancia no solo para el estado de Oaxaca si no para interpretar lo que podría suceder en otras zonas del país. Altitudinalmente, la rana manchada se distribuye desde los 500 hasta los 3200 m s. n. m. (IUCN, 2020).

ANTECEDENTES

Efectos negativos de peces exóticos sobre larvas de anuros

Depredación y señales visuales.

Los peces exóticos pueden afectar a estadíos larvales de anuros por vías directas como la depredación y competencia o por vías indirectas mediante señales químicas o visuales. Se ha encontrado que es en la fase larval de los anfibios de ciclo de vida bifásico, donde son más vulnerables a la presencia de peces exóticos debido a que pueden reducir fácilmente su abundancia mediante depredación directa (Falaschi, 2020).

Estudios con *Hyla arborea* en Suiza, han demostrado que durante las temporadas reproductivas, estos Hylidos escogen aquellos sitios donde los peces están ausentes, siendo un factor determinante para la reproducción exitosa de estas ranas (Brönmark y Edenham, 1994). Experimentos en Australia demostraron que la presencia del pez mosquito *Gambusia holbroki* disminuye las tasas de supervivencia por depredación de larvas de *Litoria aurea* y *Litoria dentata* (Morgan y Buttemer, 1996). En experimentos para medir la supervivencia de renacuajos en relación a la presencia de peces o insectos acuáticos depredadores, se ha encontrado que mayor complejidad del hábitat, medido en densidad de plantas, aumenta la supervivencia al reducir la capacidad de los depredadores de ver o detectar a los renacuajos en movimiento (Babbit y Jordan, 1996).

Señales Químicas

Las señales químicas (feromonas) cumplen una función importante en el comportamiento antipredatorio de los anfibios, en los que se sabe que el principal sitio de percepción de estas señales es el sistema vomeronasal (Rajchard, 2006).

En el estadio larvario de los anfibios, se han hecho estudios que demuestran que los renacuajos son capaces de aprender a detectar la presencia de depredadores potenciales por medio de la asociación con señales químicas emitidas por los mismos (Woody y Mathis, 1998) y estas señales son usadas para reducir riesgos de depredación (Kats *et al.*, 1988). Las respuestas antipredatorias que los renacuajos muestran pueden incluir: cambios morfológicos en el desarrollo del cuerpo o la cola, cambios en la coloración de esta última o aceleración del desarrollo y crecimiento. Estas respuestas morfológicas antipredatorias, son detonadas por metabolitos de la digestión o señales de alarma (LaFiandra y Babbitt, 2004).

En experimentos de relación depredador-presa entre tres especies simpátricas de larvas de anuros, se demostró que las larvas presas, detectaban a los depredadores exclusivamente mediante señales químicas más que por señales visuales (Saidapur *et al.*, 2009). Otro experimento con renacuajos de una rana arborícola con cuidados parentales (*Oophaga pumilio*) en la que la madre alimenta a las larvas con huevos infértiles, demostró que los renacuajos nadaban cuando eran sometidos a estímulos visuales de adultos de la misma especie, pero solo pedían alimento cuando eran sometidos a estímulos químicos, visuales y táctiles de la misma especie; por el contrario se quedaban inmóviles cuando eran sometidos a estímulos de un potencial depredador (Stynoski y Noble, 2012).

Respuestas de larvas de anuros.

Diversos estudios se han realizado para evaluar respuestas comportamentales de larvas de anuros ante la presencia de depredadores. Algunos de estos depredadores son especies nativas, mientras que otras son especies exóticas invasoras. En el caso de los peces exóticos, experimentos con *Gambusia holbroki* (pez mosquito) en Australia, encontraron que los renacuajos de *Litoria aurea* seleccionan sitios donde no está presente el pez para reproducirse (Hamer *et al.*, 2002). En experimentos realizados en Finlandia con renacuajos de *Bufo bufo* y *Rana temporaria* se encontró que la dieta de los depredadores condiciona las respuestas comportamentales de las larvas de anuros. Las larvas expuestas a depredadores alimentados previamente con renacuajos muestran diferencias en uso del espacio

y reducción de movimiento como respuesta anti predatoria (Laurila *et al.*, 1997). Esta reducción de movimiento en algunas especies ha demostrado ser un factor que aumenta la supervivencia de larvas expuestas a depredadores, en contraste a aquellas especies que muestran mayor actividad (Lawler, 1989). Dependiendo de las especies de depredadores, las respuestas de las larvas de anfibios pueden ser de aumento o reducción de movilidad y a su vez, este comportamiento está correlacionado con el crecimiento que puede ser lento o acelerado (Relyea y Werner, 1999) y en este sentido, se ha encontrado que algunas larvas completan su metamorfosis más rápido en presencia de depredadores como respuesta a esta presión (Skelly y Werner, 1990).

Impacto de la introducción de trucha arcoíris en anfibios del neotrópico

Pocos son los estudios que han evaluado el impacto de la introducción de la trucha arcoíris (*O. mykiss*) sobre anfibios del Neotrópico *sensu* Morrone (2014). Sin embargo, experimentos en Colombia, con una rana endémica (*Nymphargus grandisonae*) demostraron que la presencia de la trucha modifica la morfología de las larvas de esta especie e induce altas tasas de mortalidad en huevos de *Engystomops petersi*, cuando la trucha arcoíris es vector de *Saprolegnia diclina* Martín-Torrijos *et al.*, 2016). De igual forma se ha detectado la presencia de *Saprolegnia sp.* que es un Oomyceto que infecta a salmónidos, en una población de *Atelopus mittermeieri*, un sapo arlequín endémico de Colombia que ocurre en sitios donde se ha introducido a la trucha arcoíris, lo que sugiere una transmisión vertical de este parásito (Prada-Salcedo *et al.*, 2011). Un estudio de la riqueza de ranas de cristal (Centrolenidae) en arroyos donde se han establecido granjas de cultivo de trucha arcoíris, demuestra que la riqueza de especies de esta familia es mayor en sitios donde no hay granjas que en donde si las hay (Krynak *et al.*, 2020). En ríos y arroyos de las Sierras Pampeanas Centrales en Argentina la presencia de *Boana cordobae* y *Odontophrynus achalensis*, dos anfibios endémicos de este país, decrece en aquellos sitios donde está presente la trucha arcoíris (Miloich *et al.*,

2019). En Chile, se ha documentado la expansión del rango de distribución de la trucha arcoíris a todo el Altiplano Chileno, donde el establecimiento de truchas ferales está directamente relacionado con sitios de cultivo de esta especie sin embargo el impacto de estos peces sobre los anfibios nativos no ha sido medido aún (Lobos *et al.*, 2020).

En el caso de México, hasta la fecha solo existen dos artículos que evalúan el impacto de la ocurrencia de la trucha arcoíris o su cultivo sobre anfibios nativos. Se encontró que en arroyos en la Sierra de Las Cruces en el Eje Neovolcánico Transversal donde se cultiva trucha arcoíris (*O. mykiss*), estos peces se pueden encontrar en vida libre. Al comparar las características ambientales de los cuerpos de agua, no se encontraron diferencias entre arroyos, sin embargo *Ambystoma altamirani* no se distribuye en arroyos donde hay presencia de truchas y solo se encontró un arroyo con *Dryophytes plicatus* y trucha arcoíris coocurriendo (Zamora *et al.*, 2018). La más reciente investigación hecha en México cuyo objetivo es determinar el impacto del cultivo de trucha arcoíris sugiere basado en la presencia/ausencia de anfibios, que no existe impacto de las granjas sobre los anfibios, sin embargo reporta que en algunos arroyos se pueden encontrar alevines de trucha arcoíris (Alcocer *et al.*, 2022).

Con el objetivo de aumentar el conocimiento de los efectos directos e indirectos del cultivo de truchas y la presencia de este pez exótico en el comportamiento de los anfibios nativos, en este estudio evaluamos 1) si las larvas de la rana manchada (*Lithobates spectabilis*) son capaces de detectar mediante señales químicas la presencia de una trucha arcoíris y cuál es la respuesta que presentan ante tal estímulo. 2) Si las larvas son capaces de detectar visualmente a un pez y la respuesta que presentan y 3) Si la exposición prolongada a la presencia de la trucha arcoíris y la densidad de renacuajos tienen implicaciones en el crecimiento y desarrollo de las larvas de la rana manchada.

Se considera que el establecimiento de granjas de truchas en arroyos donde ocurren anfibios nativos, por si solas alteran la estructura de esos sistemas acuáticos e inducen cambios en el comportamiento de las larvas de anfibios al

alterar las características fisicoquímicas del agua. Aunado a esto, el escape de las truchas y su establecimiento en los arroyos debido a deficiencias en el diseño de los estanques reduce la supervivencia de larvas y altera su comportamiento al grado de comprometer su crecimiento y desarrollo.

HIPÓTESIS

Las larvas de la rana manchada son capaces de detectar la presencia de la trucha arcoíris mediante señales químicas difundidas en el medio acuático y en respuesta se refugian.

Las larvas de la rana manchada son capaces de detectar visualmente la presencia de la trucha arcoíris y mostrar cambios conductuales.

La exposición prolongada a agua con residuos generados por la trucha arcoíris en interacción con la densidad de renacuajos tiene un efecto en el crecimiento, desarrollo y sobrevivencia de larvas de la rana manchada.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar los efectos que tiene la presencia de trucha arcoíris sobre larvas de *L. spectabilis*.

Objetivos específicos

- Evaluar si las larvas de la rana manchada son capaces de detectar a la trucha arcoíris mediante señales químicas difundidas en el medio acuático.

- Evaluar si las larvas de la rana manchada pueden detectar visualmente la presencia de truchas.
- Evaluar el efecto de la exposición prolongada al agua donde se ha mantenido viva a una trucha en combinación con distintas densidades de renacuajos, sobre el crecimiento , velocidad de desarrollo y sobrevivencia de larvas de la rana manchada.

MÉTODOS

Especies de estudio

Oncorhynchus mykiss Walbaum, 1792

La trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) es un salmónido endémico del noreste de Siberia y Norte América donde su distribución natural va desde Alaska hasta el sur de California. Tiene una preferencia por arroyos poco profundos (.65 m) con agua fría con temperaturas entre 0 y 22 °C, con márgenes con cobertura vegetal aérea y acuática así como restos de madera, libres de arenas finas, limos y arcillas de >2 mm de diámetro (COSEWIC, 2014). La trucha como especie exótica, puede acelerar el decrecimiento de la riqueza de fauna a nivel local, de ecosistema y paisaje, causar cascadas tróficas que alteran las cadenas tróficas acuáticas, la producción primaria y alterar el ciclo de nutrientes y energía (Hirner y Cox, 2007). Son depredadores muy voraces y han sido reportadas como un factor en la declinación global de anfibios (Gall y Mathis, 2010).

Lithobates spectabilis (Rana manchada) es una especie de anuro endémico de México categorizada como de preocupación menor (LC) en la lista roja de la UICN (Santos-Barrera y Flores-Villela, 2004) y no se encuentra sujeta a protección por las normas oficiales mexicanas. Su distribución abarca los estados de Oaxaca, Puebla, Morelos, Michoacán, Hidalgo, Estado de México, Tlaxcala y Veracruz; áreas donde también la producción de truchas ha sido promovida y es común. La rana manchada es una especie semi acuática cuyo nicho es compartido con la trucha arcoíris en sitios donde se ha establecido en vida libre o donde se ha promovido el establecimiento de granjas de esta especie.

L. spectabilis típicamente pone sus huevos en una masa sumergida y esférica, en pozas de arroyos. La masa de esta especie contiene aproximadamente 3,000 embriones en un volumen de 250 ml. Los embriones presentan un diámetro de 2.5 mm y las envolturas de gelatina son de 6.0 mm de diámetro. Los renacuajos de *L. spectabilis* habitan en cuerpos de agua lénticos y lóticos. Presentan una cola larga y musculosa, con aletas bajas. Los renacuajos de esta especie son grandes; individuos con una longitud total de más de 100 mm son comunes (Hills et al., 1983).

Obtención y mantenimiento de organismos

Lithobates spectabilis (Hills y Frost, 1985)

Con el objetivo de obtener puestas y renacuajos de *Lithobates spectabilis* que no hayan sido expuestos previamente a la trucha arcoíris y con ello reducir el sesgo de animales que hayan aprendido durante su desarrollo a detectar a un la trucha, se reprodujeron ranas de la especie en condiciones de laboratorio.

Se colectaron cuatro hembras y cuatro machos de la rana manchada (Permiso de colecta SGPA/DGVS/09541/21) en el paraje La Nevería (-96.9171 O, 16.9424 N) dentro de la comunidad de Santiago Clavellinas, perteneciente al municipio de Zimatlán de Álvarez, Oaxaca (Fig. 1). Los organismos fueron transportados al Laboratorio de Ecología de Anfibios del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca (CIIDIR-Oaxaca). Estos ejemplares fueron mantenidos en dos contenedores plásticos con capacidad de 250 L donde se les acondicionó un terrario con plantas, rocas y arena del sitio de colecta con el fin de proveer de las condiciones necesarias para lograr la reproducción de la especie en el laboratorio.

Se contó con dos terrarios, uno para el grupo 1 (dos hembras y dos machos) y otro para el grupo 2 (dos hembras y dos machos). A los terrarios se le colocaron oxigenadores y una malla sujeta a la parte superior a modo de tapa para permitir el flujo de oxígeno y al mismo tiempo evitar el escape de los organismos. Los organismos fueron alimentados *ad libitum* con adultos de *Acheta domesticus* (Grillo común) y larvas de *Tenebrio molitor* (escarabajo de la harina) todos los días al atardecer. El agua de los terrarios fue remplazada en 50% cada semana con agua filtrada por ósmosis inversa.

Una vez obtenidas las puestas, las masas de huevos se separaron y transportaron a contenedores transparentes con capacidad de 15 L. Cada contenedor estaba lleno con agua filtrada la cual se mantuvo oxigenada por medio de oxigenadores de acuario. Una vez que los huevos eclosionaron, las larvas se separaron en grupos 100 individuos en contenedores de 20 L donde se les suministró 50 g de *Spinacia oleracea* hervida cada 4 días mezclados con alimento triturado (Kyorin Co., LTD.). El cuidado de las larvas se llevó a cabo hasta que alcanzaron el estadio 25 de Gosner (1960) en esta fase el disco oral se ha desarrollado por completo y por consiguiente la alimentación es independiente. Los ojos están completamente desarrollados y funcionales. Se considera que a partir de este estadio los renacuajos son propiamente una larva de nado libre que se alimenta por si misma.

Cuando las larvas alcanzaron esta fase de desarrollo, se consideraron viables y listas para iniciar los experimentos.

Todos los organismos colectados fueron revisados diariamente con el fin de asegurar el óptimo mantenimiento y su buen estado de salud.

Oncorhynchus mykiss Walbaum, 1792

Para obtener los organismos de trucha arcoíris necesarios para la realización de los experimentos, se colectaron 6 individuos adultos (Permiso de colecta SGPA/DGVS/09541/21) que se encontraban establecidos en el arroyo principal del área de estudio (-96.91531 O, 16.94082 N) (Fig. 1) mediante el empleo de una red. En este arroyo, las truchas son especies exóticas que han escapado de las granjas trutícolas locales y han establecido poblaciones. Los organismos fueron transportados al Laboratorio de Ecología de Anfibios del CIIDIR-Oaxaca donde se mantuvieron vivos en un contenedor plástico con capacidad de 300 L (3 individuos por contenedor), el cuál fue colocado dentro del cuarto de temperaturas controladas (CTC) del laboratorio con el fin de proveerles de temperaturas óptimas (17 °C). Este contenedor fue cubierto con una malla, sujeta a los bordes, con el fin de impedir el escape de los peces, ya que éstos muchas veces tienen el comportamiento de saltar con fuerza. Así mismo se colocaron 2 oxigenadores y un filtro mecánico de acuario para recolectar los desechos de los peces y restos de alimento. Los organismos fueron alimentados diariamente por la mañana y por la tarde con alimento especial "Nutripec" (Agribrands Purina México, S. de R.L. de C. V.) en una cantidad dependiente del peso de los organismos y calculado mediante la fórmula (Peso en Kg X 1.7%= cantidad de alimento dividida en dos raciones diarias). El agua del habitáculo fue reemplazada en un 30% cada tres días o totalmente, dependiendo de la cantidad de partículas suspendidas, con el fin de mantenerla limpia.

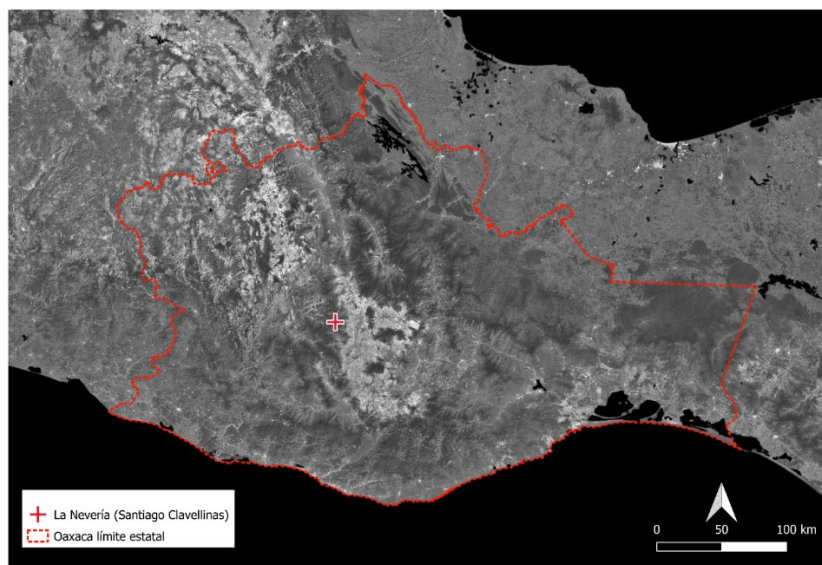


Figura 1. Localización del paraje La Nevería. Perteneciente a la comunidad de Santiago Clavellinas. Se ubica en la región Montañas y Valles de Occidente dentro del municipio de Zimatlán de Álvarez a una altitud media de 2200 m s. n. m. en el estado de Oaxaca, México.

EXPERIMENTOS

Experimento 1: Efecto de señales químicas

Con el fin de evaluar si la presencia de granjas de cultivo de *O. mykiss* y el desecho de sus aguas tiene un efecto sobre el comportamiento de larvas de *L. spectabilis* se realizaron experimentos controlados. Estos experimentos permitieron determinar si las larvas son capaces de detectar señales químicas emitidas y liberadas al agua por las truchas.

Para ejecutar el experimento, se montó un sistema de flujo gravitacional (SFG) modificado de Petranka y Sih (1987) (Fig. 2). Este sistema consiste en 3 contenedores de plástico de 18 L unidos por un segmento de 10 cm de manguera de 1" en un extremo con una llave de paso de CPVC de 3/8 "al otro. Para permitir un flujo continuo de agua y asegurar que la señal química fuera transmitida en todo el ciclo del experimento, se utilizó un contenedor de 20 L y al interior se colocó una bomba de 18 W para circular el agua. En la fase C del sistema se fijó un contenedor de plástico oscuro con dos entradas de 10 cm de largo a los costados. Este

contenedor sirve como refugio para las larvas. Así mismo se le añadió un segmento de manguera al extremo de la llave que vierte agua de la Fase B a la Fase C, de tal modo que permaneciera sumergido y evitara el movimiento del agua. En la Fase A se colocó un oxigenador de 10 W para asegurar que ningún organismo sufriera de hipoxia. Para registrar la respuesta de los renacuajos evitando un efecto por presencia humana cada experimento fue videograbado. Para ello, se colocó una cámara de video en posición cenital sobre la fase C del SFG (Fig. 2). El SFG fue idéntico, tanto para el tratamiento (con pez) como para el control (sin pez). Para el análisis de las grabaciones se utilizó el software Avidemux (Mean, 2019).

El experimento consistió en exponer a los renacuajos a agua en la que está presente un individuo de trucha arcoíris y evaluar su comportamiento mediante el uso de refugio. Los grupos de renacuajos evaluados provenían de diferentes progenitores, por lo que se conocía la puesta de la que eclosionaron, a la cual se le asignó un identificador único. A lo largo del experimento se evitó que los renacuajos pudieran detectar visualmente al pez para asegurarnos que las respuestas emitidas se debían únicamente a la detección a través del agua. Cada experimento duró 20 min. El factor a evaluar fue la presencia de trucha. Para el control se utilizó un SFG idéntico, sin la presencia de un pez. Tanto el tratamiento como el control se realizaron simultáneamente. La respuesta a evaluar fue la “proporción de renacuajos dentro y fuera del refugio”, esta respuesta fue categorizada de manera binomial. Para evaluar esta respuesta se contabilizó el número de renacuajos cada 5 min durante un periodo de 20 min (4 tiempos de observación). Todos los experimentos se realizaron en el cuarto de temperaturas controladas (CTC) del Laboratorio de Ecología de Anfibios del CIIDIR-Oaxaca a una temperatura de 20 °C.

Para este experimento se realizaron 20 ensayos (10 tratamiento + 10 control). A cada ensayo se le asignó un identificador único, obteniendo un total 20 ensayos. Posterior a los experimentos, todos los organismos anfibios fueron eutanizados mediante sobredosis de Lidocaína en dosis acorde al peso (Collymore *et al.*, 2016; Chatigny *et al.*, 2017; Chatigny *et al.*, 2018; Lillywhite *et al.*, 2017).

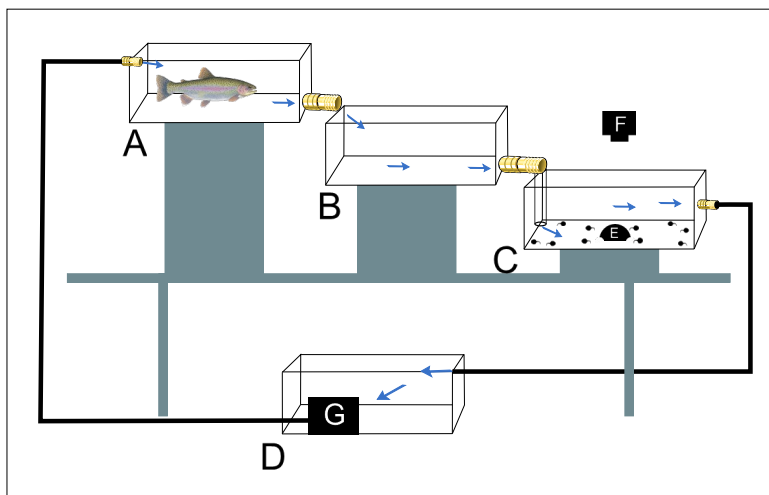


Figura 2. Sistema de flujo gravitacional para evaluación de respuesta de renacuajos ante señales químicas.

A) fase inicial del sistema donde se coloca al pez en el tratamiento. B) fase para estabilización del flujo de agua y evitar desbordamientos. C) fase donde se colocan a las larvas. D) fase final donde se reinicia el ciclo mediante el bombeo de agua a la fase inicial. E) refugio para evaluar la respuesta "uso de refugio". F) cámara de video en posición cenital para registrar el experimento. Las flechas azules indican la dirección del flujo de agua.

Experimento 2: Efecto de señales visuales

El segundo experimento tuvo el fin de evaluar si los renacuajos de *L. spectabilis* son capaces de detectar a individuos de *O. mykiss* de manera visual y si es así determinar si presentan alguna respuesta conductual.

Para ello, se diseñó una cámara con un contenedor de plástico rectangular con capacidad de 30 L, el cual se dividió a la mitad con un cristal antirreflejante de 1 mm (Fig. 3). Este cristal crea y aísla dos compartimentos. En uno de los compartimentos se colocaron a las larvas sujeto de estudio (Fig. 3-i), mientras que en el otro, se colocó a un individuo de trucha arcoíris en el tratamiento. Para el caso del control se colocaron las larvas dentro de un compartimento y el otro se dejó vacío (Fig. 3-h). El compartimento para larvas tiene un refugio con dos entradas fijado al fondo; su objetivo es servir de escondite para las larvas como respuesta anti predatoria. El diseño de las cámaras fue idéntico, tanto para el tratamiento (con pez) como para

el control (sin pez). Al fondo de la cámara experimental se posicionó una cuadrícula de 5 * 4 secciones que fue utilizada como referencia para evaluar la posición de los renacuajos respecto al cristal. Se colocó una cámara de video en posición cenital para grabar a los renacuajos y con ello registrar, si usaban el refugio o no y la sección de la cuadrícula en la que se posicionaban.

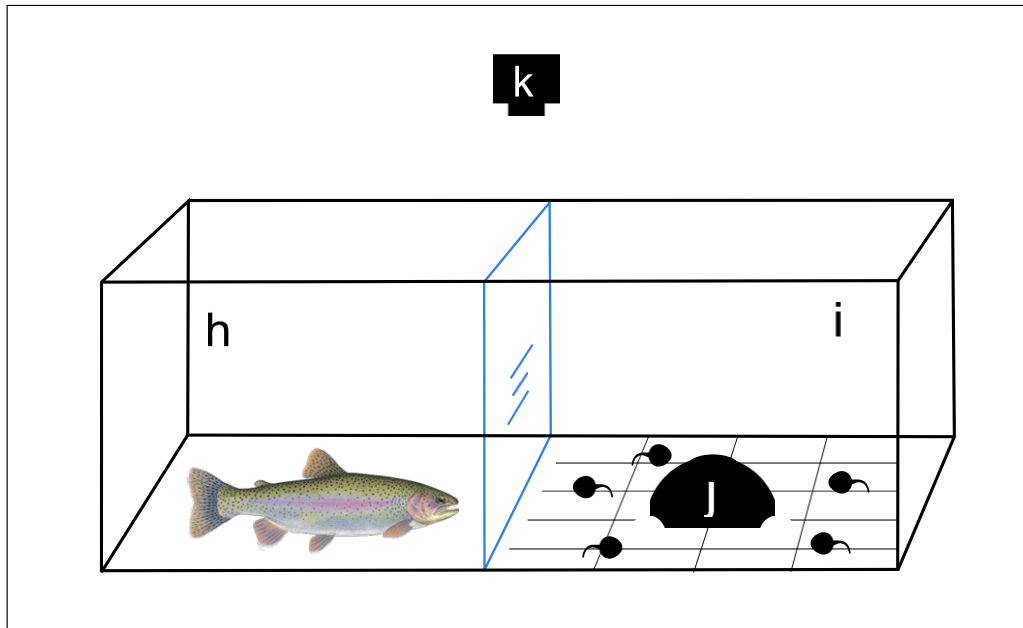


Figura 3. Cámara para evaluar el comportamiento de renacuajos ante la detección visual de una trucha. h) Sección de la cámara donde se coloca al pez. i) Sección de la cámara para colocar a los renacuajos. j) Refugio para evaluar la respuesta “uso de refugio” y “posición relativa al cristal”. k) Cámara de video para registrar el experimento. En azul se muestra el cristal antirreflejante que permite que el pez sea visible.

Este experimento tuvo una duración de 20 min. Las variables respuesta evaluadas fueron “Proporción de renacuajos dentro del refugio” y “Proporción de renacuajos cerca o lejos del cristal”, ambas respuestas categorizadas de manera binomial (dentro/fuera; lejos/cerca). Estas respuestas fueron contabilizadas cada 30 s a partir de las videograbaciones. En el caso de la variable “Proporción de renacuajos cerca o lejos del cristal” se consideraron cerca, si los renacuajos estaban dentro de cualquiera de las dos secciones más cercanas al cristal, de la cuadrícula del fondo de la cámara experimental. Así mismo se considera lejos, si los renacuajos se ubicaban dentro de cualquiera de las dos secciones más lejanas, de la cuadrícula del fondo de la cámara experimental. Para este experimento se realizaron 20

ensayos (10 tratamiento + 10 control). A cada ensayo se le asignó un identificador único. Los grupos de renacuajos provenían de diferentes puestas, a las cuales se les asignó un identificador único.

Experimento 3: Crecimiento y desarrollo

El tercer experimento tuvo por objetivo evaluar el efecto que pudiera tener la exposición prolongada al agua donde se han cultivado truchas y como esta exposición podría interactuar con la densidad de renacuajos. Este efecto fue medido sobre el crecimiento y velocidad de desarrollo de larvas de *L. spectabilis*.

El experimento consistió en colocar 36 contenedores plásticos con capacidad de 4 litros de agua, donde se colocaron renacuajos en distintas densidades: 2, 4 u 8 renacuajos por contenedor con 6 réplicas cada uno (Fig. 4). Dieciocho contenedores fueron considerados para el tratamiento y 18 para el control. En el tratamiento, de los 4 litros de agua del contenedor, 250 ml fueron reemplazados con agua donde se mantuvo viva una trucha arcoíris. En el control, no se utilizó agua de trucha.

Todos los contenedores fueron posicionados aleatoriamente sobre dos mesas (Fig. 4) dentro del cuarto de temperaturas controladas (CTC) del Laboratorio de Ecología de Anfibios del CIIDIR-Oaxaca. Para la alimentación de los renacuajos, se agregaron 0.80 gr de espinaca o lechuga hervida mezclado con 0.20 g de alimento para organismos que se alimentan de algas (Kyorin Co., LTD.) por cada renacuajo. Este régimen de alimentación se siguió semanalmente hasta la conclusión del experimento.

Durante el experimento, una vez por semana el agua fue reemplazada por completo y cada uno de los renacuajos medidos con un vernier digital (Mitutoyo (UK) Ltd). Las respuestas a evaluar fueron: Longitud de la cola, longitud del cuerpo, longitud total. Así mismo se obtuvieron medidas de peso individuales con una balanza (Ohaus Scout SPX422). Finalmente se evaluó el estadio de desarrollo según Gosner (1960) mediante la observación de los organismos en un microscopio estereoscópico

(Leica EZ4). Para evaluar la supervivencia se contabilizaron los renacuajos en cada tiempo de observación y se categorizaron de manera binomial (vivos/muertos).

La duración del experimento fue de 18 semanas, logrando obtener un total de 9 mediciones para todo el experimento (tiempos de observación). Los contenedores fueron revisados todos los días que duró el experimento y cuando se detectaba que alguno de los renacuajos hubiera muerto, era retirado y reemplazado por otro renacuajo. Los renacuajos de reemplazo se podían identificar debido a que se les hizo un corte en la punta de la cola con un bisturí, de manera que se podía observar una cicatriz en la cola que permitía identificar a los renacuajos “reemplazo”. El objetivo de reemplazar a los renacuajos era mantener constante la densidad de cada contenedor, sin embargo las medidas de estos renacuajos no eran consideradas como parte del experimento.

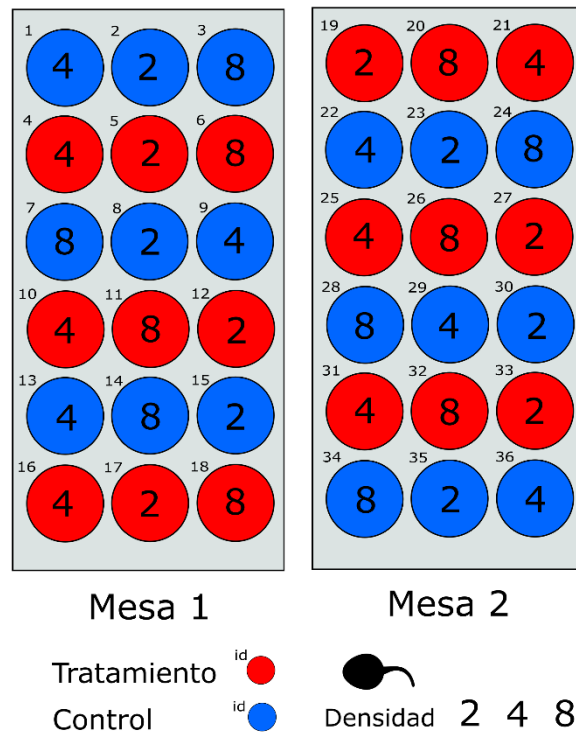


Figura 4. Distribución de contenedores para el experimento de crecimiento y desarrollo. En rojo el tratamiento con 2,4 y 8 renacuajos. En azul el control. La posición de los contenedores se aleatorizó. El superíndice a la izquierda indica el número de identificador para cada contenedor.

Análisis de datos

Para evaluar el efecto de las señales químicas, visuales y la supervivencia, las variables respuesta categorizadas como una respuesta binomial fueron analizadas mediante una regresión logística (Warton and Hui 2011) usando para cada experimento, un modelo lineal generalizado mixto con una distribución cuasi binomial para tener en cuenta la sobre dispersión de los datos, con un estimador de cuasi verosimilitud mediante la función `glmmPQL` del paquete MASS (Venables y Ripley, 2002). Finalmente para cada modelo hicimos un ANOVA con el paquete CAR (Fox y Weisberg, 2019) (Tabla 1).

Para el experimento de crecimiento y desarrollo analizamos las variables respuesta mediante un modelo lineal generalizado con la función `lmer` del paquete `lmerTest` (Kuznetsova et al., 2017).

Experimento 1: Efecto de señales químicas

Para la construcción del modelo nuestra variable dependiente fue “uso de refugio”, utilizamos la variable tratamiento y el tiempo de observación como efectos fijos. La puesta y el número de ensayo como efectos aleatorios. Número de ensayo fue anidado dentro del número de puesta.

Experimento 2: Efecto de señales visuales

Para la construcción del primer modelo utilizamos la variable tratamiento y el tiempo de observación como efectos fijos. El número de puesta y el número de ensayo como efectos aleatorios. Número de ensayo fue anidado dentro del número de puesta.

Experimento 3: Crecimiento y desarrollo

Para la construcción del modelo utilizamos las variables tratamiento (Con agua de trucha / Sin agua de trucha), la densidad (2, 4 u 8 renacuajos) y el tiempo de observación como efectos fijos. Número de contenedor como efecto aleatorio.

Tabla 1 Modelos para el análisis de experimentos.

Experimento	Variable dependiente	Efecto fijo	Efecto aleatorio	ANOVA		
				X ²	gl	p
Señales químicas	Uso de refugio ^a	Tratamiento	Número de ensayo	47.144	1	0.0001*
		Tiempo de observación	Número de puesta	6.999	1	0.0081*
Señales visuales	Uso de refugio ^a	Tratamiento	Número de ensayo	0.1648	1	0.6848*
		Tiempo de observación	Número de puesta	40.400	1	0.0001*
	Posición ^a	Tratamiento	Número de ensayo	21.4123	1	0.0001*
		Tiempo de observación	Número de puesta	0.3702	1	0.5429
	Longitud del cuerpo ^b	Tratamiento		1.4243	1	0.2327
		Tiempo de observación		1253.2	1	0.0001*
Densidad		Número de ensayo	2.2867	2	0.3188	
Tratamiento x Densidad			1.1472	2	0.5635	
Longitud de la cola ^b	Tratamiento		0.1203	1	0.7287	
	Tiempo de observación		1992.2	1	0.0001*	
	Densidad	Número de ensayo	0.1620	2	0.9222	
	Tratamiento x Densidad		1.7789	2	0.4109	
Crecimiento y desarrollo	Longitud total ^b	Tratamiento		0.0900	1	0.7642
		Tiempo de observación		2498.7	1	0.0001*
		Densidad	Número de ensayo	0.1288	2	0.9376
		Tratamiento x Densidad		1.3770	2	0.5023
Peso ^b	Tratamiento		1.4143	1	0.2343	
	Tiempo de observación		25.991	1	0.0001*	
	Densidad	Número de ensayo	1.0059	2	0.6048	
	Tratamiento x Densidad		2.6754	2	0.2624	
Estadío ^b	Tratamiento		1.3672	1	0.2423	
	Tiempo de observación		2132.5	1	0.0001*	
	Densidad	Número de ensayo	0.5221	2	0.7703	
	Tratamiento x Densidad		0.5002	2	0.7787	
Supervivencia ^a	Tratamiento		0.0406	1	0.8403	
	Tiempo de observación		247.65	1	0.0001*	
	Densidad	Número de ensayo	12.392	2	0.0020*	
	Tratamiento x Densidad		0.5693	2	0.7522	

^a indica variables categóricas, ^b variables continuas, X= interacción entre variables, * muestra valores de p significativos.

RESULTADOS

Experimento 1: Efecto de señales químicas

Los datos obtenidos muestran que existe un efecto del tiempo de observación ($X^2=6.59$, $g/1$, $p= 0.008156$), conforme avanzaba el tiempo en el experimento los efectos de las señales químicas de la trucha sobre el comportamiento de los renacuajos fueron más evidentes. Respecto a la respuesta al tratamiento, los renacuajos se refugiaban más ($X^2=47.144$, $g/1$, $p= 0.001$) cuando la señal química del pez estaba presente que cuando no lo estaba (Fig. 5).

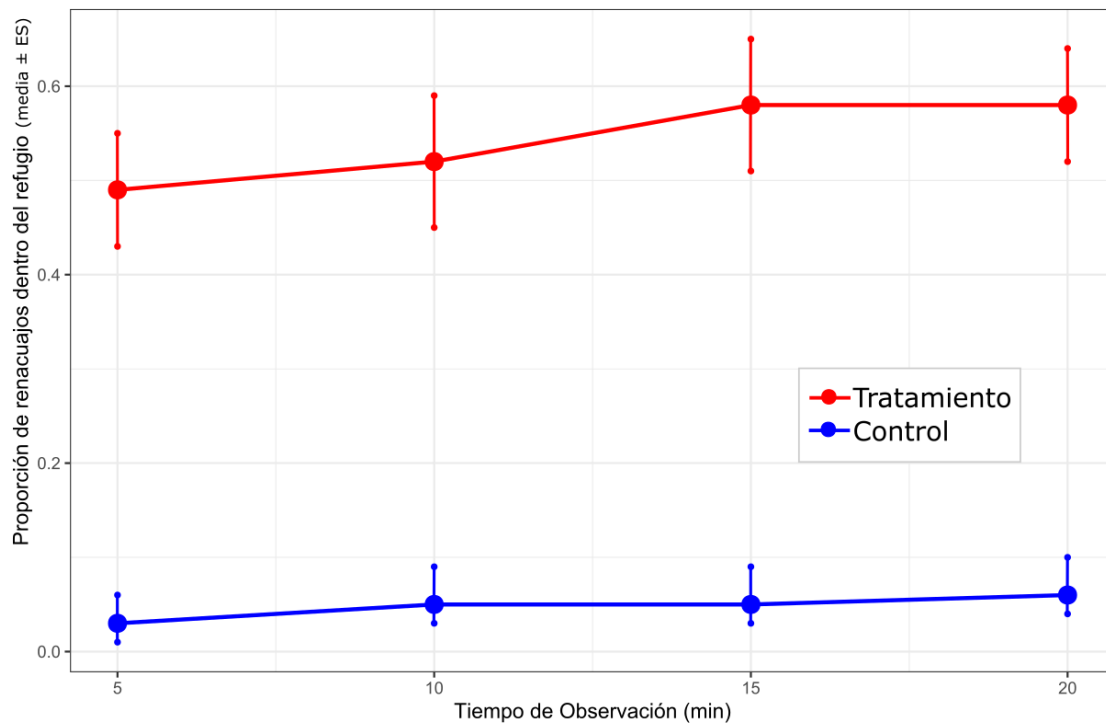


Figura 5. Proporción de larvas refugiadas ante la detección de la señal química emitida por la trucha. Los puntos representan la media y las barras el error estándar en cada tiempo de observación.

Experimento 2: Efecto de señales visuales

Los resultados no mostraron un efecto significativo del tiempo de observación ($X^2=0.3702$, $gl=1$, $p= 0.5429$). Sin embargo, mostraron un efecto significativo en la respuesta mostrada por los renacuajos cuando las señales visuales emitidas por la trucha estaban presentes ($X^2=21.41$, $gl=1$, $p= 0.0001$). Los renacuajos se ubicaban en la sección más lejana de la cámara y del pez cuando éste estaba presente que cuando estaba ausente (Fig. 6).

Al analizar el comportamiento de los renacuajos respecto al uso de refugio no hubo un efecto del tratamiento (con pez); los renacuajos utilizaron el refugio indistintamente en el tratamiento y el control ($X^2=.1648$, $gl=1$, $p= 0.6848$). Solo hubo un efecto significativo del tiempo de observación ($X^2=40.40$, $gl=1$, $p= 2.069e-10$), lo que indica que conforme avanzaba el tiempo en el experimento, los renacuajos se refugiaban más.

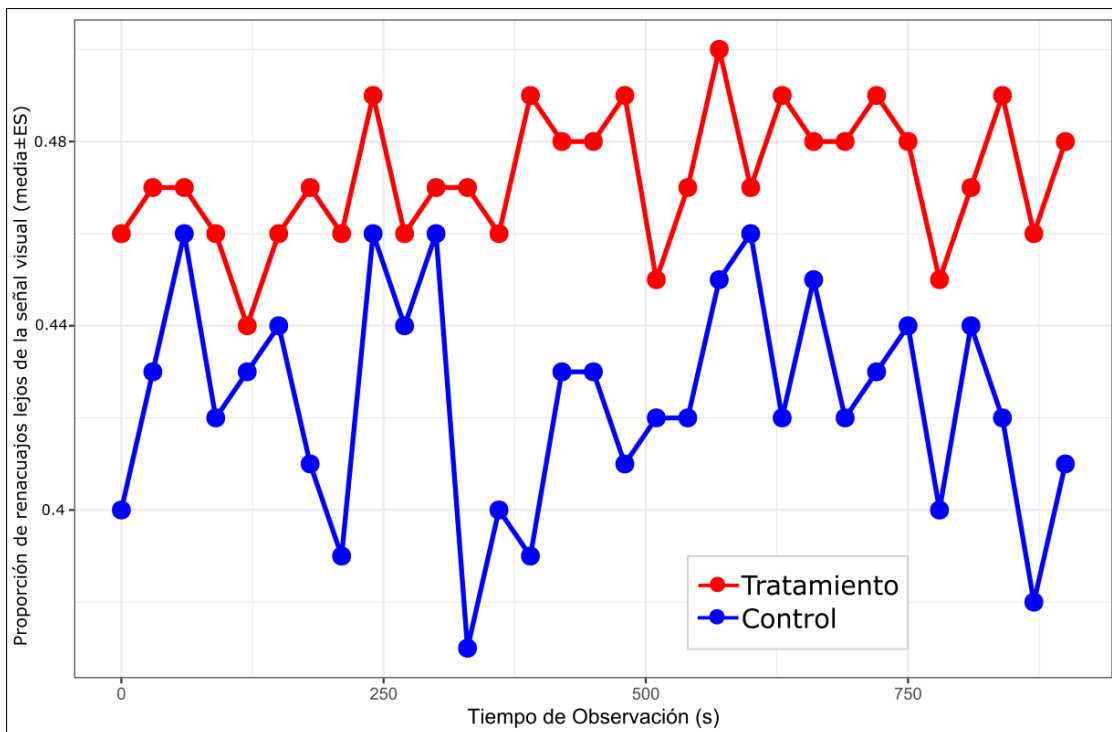


Figura 6. Proporción de renacuajos en la sección lejana de la cámara de pruebas, durante todo el periodo de duración del experimento. Los puntos representan la media en cada tiempo de observación para el tratamiento y el control.

Experimento 3: Crecimiento y desarrollo

Nuestros resultados muestran que el tratamiento (con agua de trucha y sin agua de trucha) y la interacción con densidad no tuvieron un efecto significativo en el crecimiento y desarrollo de los renacuajos (Tabla 1).

Del análisis de la supervivencia se obtuvieron diferencias significativas en el tiempo de observación ($X^2=247.4897$, $gl=1$, $p= 0.001$) ya que los renacuajos iban muriendo conforme avanzaba el experimento. Así mismo hubieron diferencias significativas en relación a la densidad ($X^2=12.5436$, $gl=2$, $p= 0.001889$) debido a que los números de renacuajos por contenedor eran distintos. Sin embargo ni el tratamiento agua de trucha ($X^2=0.0422$, $gl=1$, $p= 0.833450$) por si solo o su interacción con la densidad mostraron diferencias significativas (Tabla 1). Al analizar el efecto de la densidad de renacuajos, hubieron diferencias significativas en la supervivencia de las larvas ($X^2=12.5436$, $gl=1$, $p= 0.0001$).

DISCUSIÓN

Los impactos negativos de la introducción de salmónidos sobre los anfibios han sido ampliamente documentados (Gillespie, 2001; Kenison *et al.*, 2016; Bosch, 2019) sin embargo en México, solo existe un estudio que documenta el efecto de la introducción de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) sobre la distribución de anfibios nativos (Zamora *et al.*, 2018).

Nuestros resultados muestran que los renacuajos de *L. spectabilis* son capaces de detectar la presencia de truchas a través de estímulos químicos. Como consecuencia, alteran su comportamiento refugiándose en mayor proporción cuando la señal química está presente que cuando no está presente. Esto indica que las larvas de nuestra especie de estudio tienen la capacidad de reconocer a un pez depredador introducido, mediante señales químicas que se difunden a través del agua a pesar de ser esta la única fuente de información de la presencia de este. A diferencia de otras larvas de anfibios nativos que no son capaces de reconocer

mediante señales químicas la presencia de la trucha arcoíris (Pearson y Goter, 2009), la rana manchada responde con el comportamiento de refugiarse. Este comportamiento (uso de refugios) ha demostrado ser una respuesta de las presas ante la presencia de depredadores, que posibilita su coexistencia y genera estabilidad en esta interacción (depredador-presa), siempre y cuando existan refugios disponibles y susceptibles de ser usados (Sih, 1987; Pearl *et al.*, 2003). Sin embargo, también se ha demostrado que aunque refugiarse puede reducir momentáneamente el riesgo de depredación (Davenport *et al.*, 2013), existen costos para las presas que se traducen en menor tiempo para alimentarse (Eklöv y Halvarsson, 2000) o cambios en el tiempo y horarios de alimentación (Feminella y Hawkins, 1994). También se ha observado en algunas especies, que los renacuajos equilibran de manera adaptativa las demandas conflictivas de búsqueda de alimento y evitación de depredadores (Bridges, 2002). Las respuestas observadas en nuestros experimentos con las señales químicas, demostraron que a medida que avanza el tiempo de observación (Fig. 5), más renacuajos se refugian y se quedan inmóviles dentro del refugio. Posteriormente, probablemente en el momento en el que el refugio comienza a quedarse sin espacio, ocasiona que algunos individuos reactiven su movilidad y salgan del refugio. Como se ha observado en sistemas similares (Hossie y Murray, 2010), refugiarse aumenta la competencia por espacio con otras presas a consecuencia de la agregación en refugios (Sih, 1987). Dada la importancia de los refugios para larvas de anfibios y para reducir la depredación, se ha sugerido que aumentar estructuras vegetales que permitan a las larvas refugiarse (Babbitt y Tanner, 1998), puede facilitar la coexistencia entre truchas y larvas de anfibios (Kenison *et al.*, 2016). Sería importante en el futuro, analizar la disponibilidad de refugios en los sitios y la interacción de las larvas de la rana manchada con estos.

El hecho de que nuestra especie de estudio presente una fuerte respuesta a las señales químicas pone en evidencia que la liberación del agua sin tratar de las granjas de trucha arcoíris hacia los arroyos, tiene un efecto sobre el comportamiento de las larvas, aun cuando el pez no esté presente físicamente. Sin embargo, es común que los peces logren escapar de las granjas y se establezcan en los mismos

arroyos. De hecho, durante nuestras visitas al sitio donde colectamos a los organismos, pudimos observar varias truchas en vida libre a lo largo de al menos 4 Km del arroyo. Por otro lado, es importante resaltar que para un renacuajo, una sola fuente de información como las señales químicas para evaluar el riesgo de depredación, puede no ser muy efectiva por si sola, dado que estas señales se degradan o mueven en el medio ambiente, lo que las hace menos precisas sobre la información de riesgo que la presa puede inferir a partir de ellas (Fraker, 2008, 2009).

Los resultados obtenidos en los experimentos con la señal visual nos indican que en condiciones de visibilidad óptimas debido a la nula turbidez del agua usada en los experimentos, los renacuajos de *Lithobates spectabilis* son capaces de detectar visualmente a la trucha arcoíris y en respuesta, se alejan. Esta respuesta es bastante evidente en los individuos y es consistente con observaciones hechas en otros sistemas renacuajos-peces donde la detección de depredadores mediante estímulos visuales juega un papel importante (Hettyey *et al.*, 2012). En algunos experimentos con otras especies de ránidos se ha demostrado que las señales visuales por si solas, producen una respuesta débil en los renacuajos, argumentando que es posible que los renacuajos tengan mala visión o ésta sea limitada por la estructura del hábitat en el que se desarrollan (Stauffer y Semlitsch, 1993). Nuestros resultados sugieren lo contrario, ya que las larvas de la rana manchada son capaces de detectar de manera eficaz a un potencial depredador.

Existe un mayor acuerdo en que de manera general los renacuajos responden de mejor manera a los estímulos visuales cuando están acompañados de señales químicas o estímulos táctiles que simulen el movimiento de un potencial depredador (Stauffer y Semlitsch, 1993; Kiesecker *et al.*, 1996; Saidapur *et al.*, 2009; Szabo *et al.*, 2021) sin embargo, un aspecto que puede jugar un papel importante en la detectabilidad visual de un depredador es el rango de distancia al que se encuentra (Takahara, 2012) y el tamaño de este (Jara y Perotti, 2010). En nuestros experimentos donde las truchas alcanzaron una longitud total de ~25 cm, este pudo ser el factor más importante que permitió observar una respuesta tan evidente. Por

supuesto que en condiciones naturales, las señales que obtiene una presa sobre la presencia de un depredador no pueden estar aisladas y por consiguiente se espera una respuesta más efectiva, aunque nuestras observaciones permiten concluir que los renacuajos de nuestra especie de estudio tienen una buena visión y la capacidad de reconocer y alejarse de un potencial depredador aun cuando el estímulo visual sea la única señal recibida.

Al evaluar la respuesta de las larvas de *L. spectabilis* a la exposición prolongada de señales químicas emitidas por una trucha arcoíris y la interacción de esta señal con la densidad de renacuajos, nuestro experimento sugiere que las larvas no presentaron cambios significativos en su crecimiento y desarrollo cuando fueron expuestos de manera prolongada al estímulo de un depredador en interacción con distintas densidades. Algunos estudios han reportado en otras larvas de anuros que en presencia de un depredador aceleran su desarrollo y cambian de forma desarrollando cuerpos más anchos, colas más profundas (Thimann, 2000), cuerpos más delgados (Buskirk y Yurewicz, 1998), mayor área en la cola y menor profundidad del cuerpo (Teplitsky *et al.*, 2003). Nuestros resultados sugieren la posibilidad de que una exposición que no es constante y directa, o que presenta una baja concentración de agua donde se ha mantenido viva a una trucha no producen los cambios observados en otras investigaciones. Respecto a la densidad se ha comprobado que a mayor densidad de renacuajos menor la tasa de crecimiento y supervivencia (Newman, 1987). En experimentos donde se ha sometido a los renacuajos a una señal química de una trucha arcoíris (*O. mykiss*) en interacción con la densidad, es esta última la que tiene un efecto significativo en la tasa de crecimiento siendo más pequeños aquellos renacuajos donde la densidad es mayor y ningún efecto de la señal química (Nyström y Åbjörnsson, 2000).

Algunos de los principales cambios observables en aquellos sitios donde se han establecido granjas para el cultivo de truchas cuyo diseño implica la extracción de agua fresca de arroyos y su posterior desagüe al mismo sistema; son el aumento en la concentración de nutrientes (amonio, nitrito, nitrato, fosfato), la reducción de la concentración de oxígeno disuelto en el agua, cambios en la composición de

especies de macroinvertebrados bénticos y comunidades bacterianas (Boaventura *et al.*, 1997; Camargo y Gonzalo, 2007). A pesar de que estos cambios en la estructura de los ecosistemas a consecuencia de este tipo de acuicultura se conocen, el cultivo de la trucha arcoíris se sigue fomentando en México como una alternativa económica y complementaria que permita la ingesta de proteína de origen animal en las zonas rurales (Cruz-Castro *et al.*, 2011; Hernández y Carrillo, 2018). En México, *O. mykiss* se encuentra dentro de la lista de especies exóticas invasoras (DOF: 07/12/2016) la última actualización del Acta Nacional Acuícola, no establece una normativa de bioseguridad que tome en cuenta el riesgo de escape de truchas hacia el medio (DOF: 09/09/2013). Sin embargo estas precauciones si son tomadas en especies como la langosta australiana (*Cherax quadricarinatus*), sobre la que se menciona “*las granjas deben tener una infraestructura adecuada contra escapes, los cultivos tienen que ser de poblaciones monosexuales, las granjas no deben establecerse cerca de áreas naturales protegidas o en ambientes cercanos a especies sensibles*” (DOF: 09/09/2013).

Nuestra investigación ofrece evidencias de que hace falta una mejor evaluación del impacto real que el cultivo de trucha tiene sobre la anfibio fauna nativa, y sobre todo, reglamentar de manera más efectiva esta práctica, tomando en cuenta mejores protocolos de bioseguridad que impidan el establecimiento de poblaciones de trucha arcoíris fuera de su distribución natural y dentro de áreas de riqueza de anfibios de anfibios. Es importante que se fomente el uso de sistemas que permitan reciclar el agua, someterla a tratamiento con biofiltros antes de ser reintegrada a los sistemas acuáticos y ante todo, reducir la introducción de especies exóticas invasoras a los ecosistemas.

CONCLUSIÓN

Nuestros experimentos demuestran que las larvas de la rana manchada son capaces de detectar química y visualmente a *O. mykiss*. A pesar de que no encontramos un efecto de la exposición prolongada de las señales químicas emitidas por la trucha en el crecimiento y desarrollo de las larvas, es importante resaltar que el escape de las truchas al medio y los desechos de las granjas que se vierten en los cuerpos de agua son un factor de estrés nuevo para las larvas de anfibios nativos. Este factor promueve que pasen más tiempo refugiados, sean sometidos a mayores regímenes de estrés por depredación y a consecuencia de las condiciones físico químicas del agua de desecho de las granjas, los cuerpos de agua donde estas especies se desarrollan presenten condiciones sub óptimas para las especies de anfibios nativos.

REFERENCIAS

- Adams, M. J. (2000). Pond permanence and the effects of exotic vertebrates on anurans. *Ecological Applications*, 10(2), 559–568. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2000\)010\[0559:PPATEO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2000)010[0559:PPATEO]2.0.CO;2)
- Alcocer, G. C., Aviña, J. R. C.-, Arvide, M. G. T.-, García, D. J.-, Mendoza, H. B.-, Larrea, J. D.-, & Cabrera, R. (2022). Estratégias para o manejo sustentável da truta *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) na microbacia de Tlahuapan, Puebla. *Brazilian Journal of Development*, 8(6), 44330–44354. <https://doi.org/10.34117/bjdv8n6-113>
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., Walker, S. (2015). “Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4.” *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1–48. doi: 10.18637/jss.v067.i01.
- Bosch, J., Rincón, P. A., Boyero, L., y Martínez-Solano, I. (2006). Effects of introduced salmonids on a montane population of Iberian frogs. *Conservation Biology*, 20(1), 180–189. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2005.00296.x>
- Bosch, J., Bielby, J., Martin-Beyer, B., Rincón, P., Correa-Araneda, F., y Boyero, L. (2019). Eradication of introduced fish allows successful recovery of a stream-dwelling amphibian. *PLoS ONE*, 14(4), 0–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216204>
- Balaunstein, A. R., Han, B. A., Relyea, R. A., Johnson, P. T. J., Buck, J. C., Gervasi, S. S. y Kats, B. L. (2011). The complexity of amphibian populations decline: understanding the role of cofactors in driving amphibian losses. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1223:108-119.
- Becker, C. G. y Loyola, R. D. (2008). Extinction risk assessments at the population and species level: Implications for amphibian conservation. *Biodiversity and Conservation*, 17(9), 2297–2304. <https://doi.org/10.1007/s10531-007-9298-8>
- Bucciarelli, G., Blaustein, A., García, T. y Kats, B. (2014). Invasion complexities: The diverse impacts of nonnative species on amphibians. *Copeia* (4):611-632.

Canseco, M. L. y Gutiérrez, M. M. G. (2010). Anfibios y Reptiles del Valle de Cuicatlán-Tehuacán. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Fundación para la Reserva de la Biosfera Cuicatlán A. C., Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. México, D. F. P. 302.

Chatigny, F., Kamunde, C., Creighton, C. M., y Stevens, E. D. (2017). Uses and doses of local anesthetics in fish, amphibians, and reptiles. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 56(3), 244–253.

Chatigny, F., Creighton, C. M., y Stevens, E. D. (2018). Updated Review of Fish Analgesia. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 57(1), 5–12.

Collins, J. P. (2010). Amphibian decline and extinction: what we know and what we need to learn. *Dis Aquat Organ*, 92(2-3), 93-99. doi:10.3354/dao02307

Collymore, C., Kate Banks, E., y Turner, P. V. (2016). Lidocaine hydrochloride compared with MS222 for the euthanasia of zebrafish (*danio rerio*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 55(6), 816–820.

Comisiona Nacional de Acuacultura y Pesca (2020). Registro de la Producción Pesquera y Acuícola del año 2014. http://www.conapesca.gob.mx/work/sites/cona/datosabiertos/Produccion_Pesquera_2014.csv

Comisión Nacional del Agua – CONAGUA (2020). Información Estadística Climatológica. <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/informacion-climatologica/informacion-estadistica-climatologica>

Committee of the Status of Endangered Wildlife in Canada (2014). Assessment and Status Report on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Athabasca River Populations in Canada. 70 pp.

Courtenay, W. R., Sahlman, H. F., Miley, W. W., y Herrema, D. J. (1974). Exotic fishes in fresh and brackish waters of Florida. *Biological Conservation*, 6(4), 292–302. [https://doi.org/10.1016/0006-3207\(74\)90008-1](https://doi.org/10.1016/0006-3207(74)90008-1)

Crawford, S. S. y Muir, A. M. (2008). Global introductions of salmon and trout in the genus *Oncorhynchus*: 1870-2007. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 18(3), 313–344. <https://doi.org/10.1007/s11160-007-9079-1>

Cruz-Castro, C.A. , Hernández-Hernández, L.H., Fernández-Araiza, M. A., Ramírez-Pérez, T., Angeles-López, O. (2011). Effects of diets with soybean meal on the growth, digestibility, phosphorus and nitrogen excretion of juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Hidrobiológica* 21: 118-125.

DeVore, J. L. y Maerz, J. C. (2014). Grass invasion increases top-down pressure on an amphibian via structurally mediated effects on an intraguild predator. *Ecology*, 95(7):1724-1730.

Diario Oficial de la Federación (09/09/2013). Acuerdo mediante el cual se aprueba la actualización de la carta nacional acuícola. Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5313326&fecha=09/09/2013#gsc.tab=0

Diario Oficial de la Federación (07/12/2016). Acuerdo por el que se determina la Lista de las Especies Exóticas Invasoras para México. Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5464456&fecha=07/12/2016#gsc.tab=0

Duellman, W. E., & Trueb, L. (1994). *Biology of amphibians*. JHU press.

Edington, N. A., Stephenson, R. G., Sheridan, M. P., Thompson, G. D. y Boermans, J. H. (2003). Effect of pH and reaese on two life stages of four anuran amphibians. *Enviromental Toxicology and Chemistry*. 22(11):2673-2678.

Elvira, B., y Almodóvar, A. (2001). Freshwater fish introductions in Spain: Facts and figures at the beginning of the 21st century. *Journal of Fish Biology*, 59(SUPPL. A), 323–331. <https://doi.org/10.1006/jfbi.2001.1753>

Falaschi, M., Melotto, A., Manenti, R., y Ficetola, G. F. (2020). Invasive species and amphibian conservation. *Herpetologica*, 76(2), 216–227. <https://doi.org/10.1655/0018-0831-76.2.216>

FAO (2020). The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>

Flores, C. A., Arreortúa, M., y González-Bernal, E. (2022). Tadpole soup: Chinantec caldo de piedra and behavior of *Duellmanohyla ignicolor* larvae (Amphibia, Anura, Hylidae). *ZooKeys*, 1097, 117–132. <https://doi.org/10.3897/zookeys.1097.76426>

Fox, J. y Weisberg, S. (2019). *An R Companion to Applied Regression*, Third edition. Sage, Thousand Oaks CA. <https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/>.

Gall, B. G. y Mathis, A. (2010). Innate predator recognition and the problem of introduced trout. *Ethology*, 116(1), 47–58. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.2009.01718.x>

Garcia-Berthou, E., y Moreno-Amich, R. (2000). Introduction of exotic fish into a Mediterranean lake over a 90-year period. In *Archiv fur Hydrobiologie* (Vol. 149, Issue 2, pp. 271–284). <https://doi.org/10.1127/archiv-hydrobiol/149/2000/271>

García-Mondragón, D., Gallego-Alarcón, I., Espinoza-Ortega, A., García-Martínez, A. y Arriaga-Jordán, C. (2013) Desarrollo de la producción de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en el centro de México. *Revista AquaTIC*, 38: 46-56.

Gillespie, G. R. (2001). The role of introduced trout in the decline of the spotted tree frog (*Litoria Spenceri*) in south-eastern Australia. *Biological Conservation*, 100(2), 187–198. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(01\)00021-0](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(01)00021-0)

Gosner, K. L. (1960). A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, 16(3), 183-190.

Greulich, K. y Pflugmacher, S. (2003). Differences in susceptibility of various life stages of amphibians to pesticide exposure. *Aquatic Toxicology*. 65:329-336.

Hamer, A. J., Lane, S. J. y Mahony, M. J. (2002). The role of introduced mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) in excluding the native green and golden bell frog (*Litoria aurea*) from original habitats in south-eastern Australia. *Oecologia*, 132(3), 445–452.

<https://doi.org/10.1007/s00442-002-0968-7>

Hernández, H.L y Carrillo-Longoria, J.A. (2018). Cultivo de trucha arcoíris en México: retos que enfrenta la producción sustentable. *Ciencia Pesquera*. 26(2017), 59–64.

Hettyey, A., Rölli, F., Thürlimann, N., Zürcher, A. C. y Van Buskirk, J. (2012). Visual cues contribute to predator detection in anuran larvae. *Biological Journal of the Linnean Society*, 106(4), 820–827. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2012.01923.x>

Hillis, D. M., Frost, J. S., y Wright, D. A. (1983). Phylogeny and biogeography of the *Rana pipiens* complex: a biochemical evaluation. *Systematic Zoology* 32: 132–143.

Hirner, M. J. y Cox, S. P. (2007). Effects of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) on amphibians in productive recreational fishing lakes of British Columbia. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 64: 1770-1780.

IUCN SSC Amphibian Specialist Group (2020). *Lithobates spectabilis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T58722A53971736. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-2.RLTS.T58722A53971736.en>.

Accessed on 15 March 2022.

Johnson, T. J. P., Kellermanns, E. y Bowerman, J. (2003). Critical windows of disease risk: amphibian pathology driven by developmental changes in host resistance and tolerance. *Functional Ecology*. 25:726-734.

Joseph, M. B., Piovia-Scott, J., Lawler, S. P., y Pope, K. L. (2011). Indirect effects of introduced trout on Cascades frogs (*Rana cascadae*) via shared aquatic prey. *Freshwater Biology*, 56(5), 828–838. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2010.02529.x>

Kats, B. L. y Ferrer, P. R. (2003). Alien predators and amphibian declines: review of two decades of science and the transition to conservation. *Diversity and Distributions*, 9:99-110.

Kats, L. B., Petranka, J. W. y Sih, A. (1988). Antipredator Defenses and the Persistence of Amphibian Larvae With Fishes. *Ecology*, (69) 6:1865-1870.

Kenison, E. K., Litt, A. R., Pilliod, D. S., y McMahon, T. E. (2016). Role of habitat complexity in predator-prey dynamics between an introduced fish and larval Long-toed Salamanders (*Ambystoma macrodactylum*). *Canadian Journal of Zoology*, 94(4), 243–249. <https://doi.org/10.1139/cjz-2015-0160>

Krynak, K. L., Wessels, D. G., Imba, S. M., Krynak, T. J., Snyder, E. B., Lyons, J. A., y Guayasamin, J. M. (2020). Call survey indicates rainbow trout farming alters glassfrog community composition in the Andes of Ecuador. *Amphibian and Reptile Conservation*, 14(2), 1–1.

Kuznetsova, A., Brockhoff, P.B. y Christensen R.H.B. (2017). “lmerTest Package: Tests in Linear Mixed Effects Models.” *Journal of Statistical Software*, 82(13), 1–26. doi: 10.18637/jss.v082.i13.

LaFiandra, E. M. y Babbitt, K. J. (2004). Predator induced phenotypic plasticity in the pinewood tree frog, *Hyla femoralis*: necessary cues and the cost of development. *Oecologia*, 138, 350–359.

Laurila, A., Kujasalo, J. y Ranta, E. (1997). Different antipredator behaviour in two anuran tadpoles: effects of predator diet. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 40: 329-336.

Lawler, S. P. (1989). Behavioural responses to predators and predation risk in four species of larval anurans. *Animal Behaviour*. 38:1039-1047.

Lima, S. L. (1998). Nonlethal effects in the ecology of predator-prey interactions. *BzoScience* 48: 25-34.

Lucon-Xiccato, T., Ferrari, C. O. M., Chivers, P. D. y Bisazza, A. (2018). Odour recognition learning of multiple predators by amphibian larvae. *Animal Behaviour*, 140:199-205.

Lillywhite, H. B., Shine, R., Jacobson, E., Denardo, D. F., Gordon, M. S., Navas, C. A., Wang, T., Seymour, R. S., Storey, K. B., Heatwole, H., Heard, D., Brattstrom, B., y Burghardt, G. M. (2017). Anesthesia and euthanasia of amphibians and reptiles used in scientific research: Should hypothermia and freezing be prohibited? *BioScience*, 67(1), 53–61. <https://doi.org/10.1093/biosci/biw143>

Lobos, G., Saez, P., Villablanca, R., Prado, M., Cruz-Jofré, F., Fibla, P. y Méndez, M. A. (2020). Invasion of salmonids in the Puna and Southern Chilean Altiplano: Patterns and threats to the biodiversity. *BiolInvasions Records*, 9(4), 853–864. <https://doi.org/10.3391/bir.2020.9.4.19>

Martín-Torrijos, L., Sandoval-Sierra, J. V., Muñoz, J., Diéguez-Uribeondo, J., Bosch, J. y Guayasamin, J. M. (2016). Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) threaten Andean amphibians. *Neotropical Biodiversity*, 2(1), 26–36. <https://doi.org/10.1080/23766808.2016.1151133>

Matthews, K. R., Pope, K. L., Preisler, H. K. y Knapp, R. A. (2001). Effects of Nonnative Trout on Pacific Treefrogs (*Hyla regilla*) in the Sierra Nevada. *Copeia*, 2001(4), 1130–1137. [https://doi.org/10.1643/0045-8511\(2001\)001\[1130:EONTOP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1643/0045-8511(2001)001[1130:EONTOP]2.0.CO;2)

McDiarmid, W. R. y Altig, R. (1999). Tadpoles: The Biology of anuran larvae. The University Of Chicago Press. P. 444.

Mean (2019). Avidemux free video editor. General Public License. <http://fixounet.free.fr/avidemux/>

Mills, E. L., Leach, J. H., Carlton, J. T., y Secor, C. L. (1993). Exotic Species in the Great Lakes: A History of Biotic Crises and Anthropogenic Introductions. *Journal of Great Lakes Research*, 19(1), 1–54. [https://doi.org/10.1016/S0380-1330\(93\)71197-](https://doi.org/10.1016/S0380-1330(93)71197-1)

[1](#)

Miloch, D., Bonino, A., Leynaud, G. C. y Lescano, J. N. (2020). Endemic amphibians cornered in headwaters by trout invasion in a mountain range in Argentina. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 30(10), 1988–1995. <https://doi.org/10.1002/aqc.3441>

Miró, A., Sabás, I. y Ventura, M. (2018). Large negative effect of non-native trout and minnows on Pyrenean lake amphibians. *Biological Conservation*, 218(February), 144–153. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2017.12.030>

Morgan, L. A. y Buttemer, W. A. (1996). Predation by the non-native fish *Gambusia holbrooki* on small *Litoria aurea* and *L. dentata* tadpoles. *Australian Zoologist*, 30(2):143-149.

Morrone, J. J. (2014). Biogeographical regionalisation of the neotropical region. In *Zootaxa* (Vol. 3782, Issue 1). <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3782.1.1>

Moyle, P. B. (1976). Fish introductions in California: History and impact on native fishes. *Biological Conservation*, 9(2), 101–118. [https://doi.org/10.1016/0006-3207\(76\)90043-4](https://doi.org/10.1016/0006-3207(76)90043-4)

Nunes, A. L., Fill, J. M., Davies, S. J., Louw, M., Rebelo, A. D., Thorp, C. J., Vimercati, G. y Measey, J. (2019). A global meta-analysis of the ecological impacts of alien species on native amphibians. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 286(1897). <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.2528>

Ortiz-Pérez, M.A., Hernández-Santana, J.R., Figueroa-Mah-Eng, J.M. (2004). Reconocimiento fisiográfico y geomorfológico. En: García-Mendoza AJ, Ordoñez MJ, Briones-Salas MJ, Biodiversidad de Oaxaca (Eds.) Universidad Autónoma de México, Fondo oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza y WWF, México, 43–544.

Parra-Olea, G., Flores-Villela, O. y Mendoza-Almeralla, C. (2014). Biodiversity of amphibians in Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(SUPPL.). <https://doi.org/10.7550/rmb.32027>

Petranka, J. W., Kats, L. B. y Sih, A. (1987). Predator-prey interactions among fish and larval amphibians: use of chemical cues to detect predatory fish. *Animal Behaviour*, 35(2), 420–425. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(87\)80266-X](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(87)80266-X)

Pilliod, D. S., Hossack, B. R., Bahls Bull, E. L., Corn, P. S., Hokit, G., Maxell, B. A., Munger, J. C. y Wyrick, A. (2010). Non-native salmonids affect amphibian occupancy at multiple spatial scales. *16*: 959-974.

Prada-Salcedo, L. D., Franco-Correa, M. y Acosta-Galvis, A. R. (2011). First record of *Saprolegnia* sp. in an amphibian population in Colombia. *Universitas Scientiarum*, 16(3), 234-242.

Preston, D. L. y Lamb, R. W. (2021). Effects of trout aquaculture on water chemistry of tropical montane streams in Ecuador. *River Research and Applications*, June, 1–5. <https://doi.org/10.1002/rra.3860>

R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Rajchard, J. (2006). Antipredator pheromones in amphibians: a review. *Veterinarni Medicina*, 51(8): 409–413.

Relyea, R. A. y Werner, E. E. (1999). Quantifying the relation between predator-induced behavior and growth performance in larval anurans. *Ecology*. 80(6):2117-2124.

Sosa-Villalobos, C., Castañeda-Chávez, M. del R., Amaro-Espejo, I. A., Galaviz-Villa, I. y Lango-Reynoso, F. (2016). Diagnóstico del estado actual de los sistemas de producción acuícola con respecto al medio ambiente en México. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 44(2), 193–201. <https://doi.org/10.3856/vol44-issue2-fulltext-1>

Skelly, D. K. y Werner, E. E. (1990). Behavioral and Life-Historical Responses of Larval American Toads to an Odonate Predator. *Ecology*, 71(6): 2313-2322

Stuart, S.N., Chanson, J.S. y Cox, N.A. (2004). Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science* 306: 1783–86.

Santos-Barrera, G. y Flores-Villela, O. (2004). *Lithobates spectabilis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2004: e.T58722A11831043.

Saidapur, K. S., Veeranagoudar, K. D., Hiragond, C. N. y Shanbhag, A. B. (2009). Mechanism of predator–prey detection and behavioral responses in some anuran tadpoles.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2020). Producción pesquera por estado. http://www.campomexicano.gob.mx/raw_pesca_gobmx/seccionar.php

Skelly, D. K. y Werner, E. E. (1990). Behavioral and life-historical responses of larval american toads to an odonate predator. *Ecology*. 71(6):2313-2322.

Stuart, S. N. (2010). The global decline of amphibians: Currents trends and future prospect. En *Conservation of mesoamerican amphibians and reptiles*. Eagle Mountain Publishing,LC., pp.1-2.

Stynoski, L. J. y Noble, R. V. (2012). To beg or to freeze: multimodal sensory integration directs behavior in a tadpole. *Behav Ecol Sociobiol*, 66:191–199

Thienmann, G. W. y Wassersug, R. J. (2000). Patterns and consequences of behavioural responses to predators and parasites in *Rana* tadpoles. *Biological Journal of the Linnean Society*, 71: 513-528.

Velasco, M. A., Berkunsky, I., Simoy, M. V., Quiroga, S., Bucciarelli, G., Kats, L. y Kacoliris, F. P. (2018). The rainbow trout is affecting the occupancy of native amphibians in Patagonia. *Hydrobiologia*, 817(1), 447–455. <https://doi.org/10.1007/s10750-017-3450-6>

Venables, W.N. y Ripley, B.D. (2002). *Modern Applied Statistics with S*, Fourth edition. Springer, New York. ISBN 0-387-95457-0, <https://www.stats.ox.ac.uk/pub/MASS4/>.

Warton, D. I., & Hui, F. K. C. (2011). The arsine is asinine: The analysis of proportions in ecology. *Ecology*, 92(1), 3–10. <https://doi.org/10.1890/10-0340.1>

Whittaker, K., Koo, M. S., Wake, D. B. y Vredenburg, V. T. (2013). Global Declines of Amphibians. *Encyclopedia of Biodiversity: Second Edition*, December, 691–699. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384719-5.00266-5>

Woody, D.R. y Mathis, A. (1998). Acquired recognition of chemical stimuli from an unfamiliar predator: Associative learning by adult newts, *Notophthalmus viridescens*. *Copeia*, 3, 1027–1

Zamora, A. B. E., Smith, G. R., Lemos-Espinal, J. A., Woolrich-Piña, G. A. y Ayala, R. M. (2018). Effects of nonnative Rainbow Trout on two species of endemic Mexican amphibians. *Freshwater Science*, 37(2), 389–396. <https://doi.org/10.1086/697700>