



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES SOBRE LOS RECURSOS
NATURALES

CAMBIOS EN EL USO DEL MICROHÁBITAT DE DOS ESPECIES
DE RANAS (*Agalychnis dacnicolor* y *Smilisca fodiens*) A LO
LARGO DE UN GRADIENTE DE SUCESION EN UN BOSQUE
TROPICAL SECO

TESIS

Que presenta

Biol. Yunuen Soto Sandoval

Como requisito para obtener el título de:

**MAESTRA EN CIENCIAS EN
ECOLOGÍA INTEGRATIVA**

**Directora de tesis:
Dra. Ileri Suazo Ortuño**

Morelia, Mich. Junio de 2016



ÍNDICE

CONTENIDO	Pg.
1. Resumen	4
2. Abstract	5
3. Introducción	7
4. CAPÍTULO I. Efecto de la perturbación antrópica en el uso del microhábitat de las especies	11
4.1 Niveles de organización del hábitat y la importancia del microhábitat	11
4.2 Perturbación del hábitat y microhábitat	14
4.3 Bosques Tropicales Secos, perturbación y uso del microhábitat	16
4.4 Perturbación, microhábitat y estrés en los organismos	21
4.5 Conclusión	23
4.6 Literatura citada	28
5. Capítulo II. Efecto de los estadios sucesionales del bosque tropical seco sobre el microhábitat usado por dos especies de ranas (<i>Agalychnis dacnicolor</i> y <i>Smilisca fodiens</i>)	35
5.1 Resumen	35
5.2 Abstract	36
5.3 Introducción	37
5.4 Metodología	40
5.4.1 Sitio de estudio	40
5.4.2 Sistema de estudio	41
5.4.3 Muestreo del microhábitat	42
5.4.4 Análisis de datos	43
5.5 Resultados	45
5.5.1 Abundancia de las especies	45
5.5.2 Condición de las especies	46
5.5.3 Hábitat de las especies	49
5.5.4 Relación entre condición y las variables ambientales	54
5.5.5 Uso del microhábitat entre estadios de desarrollo	56
5.6 Discusión	59
5.7 Importancia biológica	65
5.8 Literatura citada	67
5.9 Material suplementario	72
Material suplementario 1. Coeficiente de correlación de Pearson para determinar la correlación lineal entre las variables ambientales y estructurales del microhábitat de <i>A. dacnicolor</i> y <i>S. fodiens</i>	72
Material suplementarios 2. Promedio, desviación estándar y rango de las variables ambientales y estructurales del microhábitat de <i>Agalychnis dacnicolor</i> y <i>Smilisca fodiens</i> en los diferentes estadios sucesionales del bosque tropical seco de la región de Chamela, Jalisco, México....	73
6. Capítulo III. Efecto de la perturbación del hábitat sobre la respuesta al estrés de dos especies de ranas arborícolas del bosque tropical seco de Chamela, Jalisco, México....	75
6.1 Resumen	75

6.2 Abstract	76
6.3 Introducción.....	77
6.4 Metodología.....	80
6.4.1 Área de estudio.....	80
6.4.2 Sistema de estudio.....	80
6.4.3 Muestreos	81
6.4.4 Trabajo de laboratorio	82
6.4.5 Análisis de datos	83
6.5 Resultados	84
6.6 Discusión.....	86
6.7 Conclusiones	90
6.8 Literatura citada	91
6.9 Anexo	96
Anexo 1. Concentración hormonal de <i>Agalychnis dacnicolor</i> y <i>Smilisca fodiens</i> en sitios conservados y perturbados del bosque tropical seco de Chamela, Jalisco, México	96
7 Discusión general.....	97
7.1 Literatura citada.....	101

1. Resumen

Los anfibios son dependientes de las características estructurales y ambientales del hábitat. Sin embargo, la mayoría de los hábitats en los que ocurren están siendo destruidos por las actividades humanas, como lo es el Bosque Tropical Seco (BTS). La perturbación del hábitat puede modificar el microhábitat y tener un efecto importante en la abundancia y distribución de las especies, en particular en aquellas con microhábitats específicos. Además de esto, la perturbación se centra como una de las principales amenazas para los anfibios, ya que se encuentra como uno de los principales estímulos estresantes en vertebrados. Una de las principales respuestas fisiológicas de los vertebrados ante estímulos estresantes es el aumento de glucocorticoides en la sangre y el cambio en la proporción de leucocitos. En el presente estudio evaluamos cambios en el uso del microhábitat de dos especies sintópicas de ranas arborícolas *Agalychnis dacnicolor* y *Smilisca fodiens* a lo largo de un gradiente sucesional del BTS, así como los niveles hormonales de corticosterona en suero (CORT), el perfil leucocitario e índice N/L de ambas ranas en sitios perturbados y sitios conservados del BTS. Nuestra hipótesis fue que debido a que estas dos especies son generalistas de hábitat modificarían el uso del microhábitat en respuesta a la sucesión secundaria del BTS y la temporada climática. Aunque ambas especies se registraron en los bosques secundarios y en los bosques maduros, *A. dacnicolor* prefirió el bosque maduro mientras que *S. fodiens* prefirió los lugares perturbados. Ninguna de las dos especies presentaron diferencias en biomasa entre los estadios sucesionales (ES), ni entre temporadas climáticas (TC). A diferencia de *S. fodiens* la rana *A. dacnicolor* presentó mayores tallas durante la temporada de lluvias. La temperatura corporal de ambas especies varió entre ES y TC. *S. fodiens* presentó una temperatura mas constante entre individuos en los pastizales, mientras que *A. dacnicolor* en los bosques maduros. Las variables ambientales y estructurales del hábitat que influenciaron la presencia de ambas especies dentro de los diferentes ES fueron la temperatura del sustrato, altura del árbol o arbusto donde se encontraba perchando el individuo y los porcentajes de cobertura de hojarasca, herbáceas, arbustos, árboles y suelo desnudo. Las variables que mejor explicaron la biomasa, la LHC y la temperatura corporal de *S. fodiens* fueron las ramas secas y la temperatura del sustrato y en *A. dacnicolor* la biomasa estuvo mejor explicada por las herbáceas, la LHC la altura del árbol o arbusto, y la temperatura corporal por la temperatura del sustrato. Ambas especies usaron de manera diferencial las variables ambientales y estructurales del microhábitat conforme los ES aumentaron en edad. Las variables que separaron a las especies fueron la altura del refugio y el porcentaje de árboles en los diferentes ES. *A. dacnicolor* mantuvo preferencia por los estratos mas bajos de la vegetación, mientras que *S. fodiens* mostró una amplia plasticidad en el uso del microhábitat, en particular modificó el uso en la altura del refugio. Nuestros resultados sugieren que aun y cuando ambas especies han sido consideradas especies generalistas de hábitat, en los paisajes antropizados la rana *A. dacnicolor* es una especie especialista del microhábitat y *S. fodiens* es una especie con mayor plasticidad ecológica en el uso del microhábitat. Estas diferencias en el uso del microhábitat en respuesta a la perturbación del hábitat pueden ayudar a explicar el éxito de las especies en estos nuevos paisajes, así como la importancia de los bosques secundarios en distintas etapas de sucesión para mantener microhábitats adecuados para la permanencia de las especies en los paisajes antropizados. En cuanto a la respuesta al estrés ninguna de las dos especies presentó diferencias significativas en el nivel hormonal de CORT, el perfil leucocitario y el índice neutrófilo/linfocito (índice N/L) entre sitios perturbados y sitios conservados. Tampoco se encontró relación entre la LHC y el peso corporal con el índice N/L en

ninguna de las dos especies. En conjunto, los indicadores fisiológicos evaluados en el presente trabajo nos permiten concluir que las ranas que habitan los ambientes perturbados presentan una respuesta al estrés que no difiere de la presentada por los animales que habitan los ambientes conservados.

Palabras clave: Perturbación, Hylidae, Estrés, Sintópicas, Bosque secundario

2. Abstract

Amphibians are dependent on the structural and environmental characteristics of the habitat. However, most occurring in habitats are being destroyed by human activities. Like is the Tropical Dry Forest (TDF). Habitat disturbance can modify the microhabitat and have a significant effect on the abundance and distribution of species, particularly those with specific microhabitats. Besides this disturbance centers as one of the main threats to amphibians as is as a major stressful stimuli in vertebrates. One of the main physiological responses of vertebrates to stressful stimuli is increased glucocorticoid blood and the change in the proportion of leukocytes. In the present study we evaluated changes in microhabitat use two syntopic species of tree frogs *Agalychnis dacnicolor* and *Smilisca fodiens* along a successional gradient in a TDF as well as hormone levels in serum corticosterone (CORT), the leukocyte profile and index N / L of both frogs in disturbed sites and preserved sites of TDF. Our hypothesis was that because these two species are habitat generalists microhabitat use would change in response to the secondary succession of TDF and climate season. Although both species were recorded in secondary forests and old growth forests, *A. dacnicolor* preferred the mature forest while *S. fodiens* preferred disturbed sites. Neither species showed differences in biomass between successional stages (SS), or between climatic seasons (CS). Unlike *S. fodiens* frog *A. dacnicolor* presents larger sizes introduced during the rainy season. The body temperature of both species vary between SS and CS. *S. fodiens* presented a more constant temperature between individuals in pastures, while *A. dacnicolor* in mature forests. Environmental and structural habitat variables that influenced the presence of both species within different SS were the substrate temperature, height of the tree or shrub where the individual and the percentages of coverage litter was roosting, grasses, shrubs, trees and bare soil. The variables that best explained the biomass, the LHC and body temperatura of *S. fodiens* were dry branches and the substrate temperature and for *A. dacnicolor* biomass was better explained by the grasses, the LHC the height of the tree or shrub, body temperature and the substrate temperature. Both species used differentially environmental and structural variables of microhabitats as they were SS increased age. The variables that separated the species were the height of the shelter and the percentage of trees in different SS. *A. dacnicolor* held preference for the lowest strata of vegetation, while *S. fodiens* showed extensive plasticity in microhabitat use, including use in modified height of the shelter. Our results suggest that even when both species were considered habitat generalist species in anthropic landscapes frog *A. dacnicolor* is a specialist microhabitat species and *S. fodiens* is a species with greater ecological plasticity in microhabitat use. These differences in microhabitat use in response to habitat disturbance may help explain the success of the species in these new landscapes as well as the importance of secondary forests in different stages of succession to maintain adequate microhabitats for the permanence of species in anthropogenic landscapes. As for the stress response either species differed in hormonal level CORT, leukocyte profile and neutrophil / lymphocyte index (index N / L) between disturbed sites and conserved sites. Nor LHC relationship between body weight and the N / L ratio in either

species was found. Overall, the physiological indicators evaluated in this study allow us to conclude that the frogs that inhabit disturbed environments have a stress response that does not differ from that presented by the animals that inhabit the preserved environments.

3. Introducción

A nivel global las poblaciones de anfibios están experimentando un declive masivo, algunas de las causas son la introducción de especies exóticas, enfermedades emergentes, contaminantes químicos, cambio climático global y la transformación del hábitat ya sea por degradación, pérdida o fragmentación (Blaustein et al., 2011). Los anfibios son un grupo susceptible a la degradación del ambiente por sus características morfológicas y fisiológicas (Vitt & Caldwell, 2014). Estas características hacen que los anfibios sean sensibles a cambios en las características del hábitat. Sin embargo, la mayoría de los hábitats en los que los anfibios ocurren están siendo transformados por actividades humanas a un ritmo acelerado. Tal es el caso de los bosques tropicales secos (BTS), reconocidos como uno de los hábitats más amenazados del mundo (Janzen, 1988; Dirzo, Young, Mooney y Ceballos, 2011). México cuenta con el 38% de la extensión total de los BTS en el Continente Americano, sin embargo, solo el 27% de su cobertura original permanece intacta (Trejo & Dirzo, 2000; Portillo-Quintero & Sanchez-Azofeifa, 2010) y a pesar de su importancia biológica, se estima que al menos el 48% de la extensión de estos bosques se ha perdido debido al cambio de uso del suelo (Dirzo et al., 2011).

De acuerdo con varios reportes, la perturbación de los bosques altera la composición y estructura de las comunidades herpeofaunísticas debido a la modificación o desaparición de las condiciones ambientales y estructurales de los microhábitats presentes en bosques no perturbados (Urbina-Cardona & Londoño, 2003; Urbina-Cardona, 2008). La manera como las especies de anfibios responden a los disturbios del hábitat depende de manera importante de su habilidad de adaptación y de sus características poblacionales (Hunter, 1996). Los anfibios dependen de microhábitats que les provean las condiciones adecuadas para refugio, alimentación, reproducción, estivación y escape de depredadores, entre otros aspectos (Urbina-Cardona & Reynoso, 2011, Urbina-Cardona, Reynoso & Dirzo, 2012). Sin embargo, la mayoría de las especies de anfibios han mostrado ser

especialmente sensibles a cambios drásticos en sus microhábitats (Duellman & Trueb, 1994). Los rangos estrechos de tolerancia ecofisiológica de los anfibios, hace que estos sean abundantes en áreas con condiciones de microhábitat óptimas, pero cuando estas condiciones se ven modificadas aumenta su vulnerabilidad dependiendo de la sensibilidad de cada especie (Pizano & García, 2014; Urbina-Cardona et al., 2014). Diversos estudios han propuesto que el microhábitat de las especies se modifica tras el paso de alguna perturbación (Isaacs-Cubides & Urbina-Cardona, 2011; Cortés-Gómez, Castro- Herrera & Urbina-Cardona, 2013).

Un resultado de la perturbación de los BTS, es el establecimiento de bosques secundarios. Estos presentan una composición y estructura vegetal diferente a la del bosque primario, así como cambios estructurales importantes a lo largo del proceso de sucesión (Morales & Sarmiento, 2002). Por ejemplo, los bosques secundarios presentan diferencias significativas entre los estadios sucesionales en cuanto a la densidad de árboles, cobertura del dosel y la cobertura de hojarasca (Suazo-Ortuño et al., 2015). Estos cambios en los atributos del hábitat pueden tener un efecto importante en la abundancia y distribución de las especies, en particular en aquellas especies que tienen asociación estrecha con microhábitats particulares, como es el caso de los anfibios (Vitt, Ávila-Pires, Esposito, Sartorius & Zani, 2007). De esta manera, el microhábitat se puede considerar como un factor importante en la distribución de las especies o de sus diferentes estadios de desarrollo (e.g. crías, juveniles y adultos) ya que la mayoría dependen de alguna estructura específica del hábitat en el cual viven (MacFadden & Capen, 2002; Vitt et al., 2007; Bustos-Zagal, Manjarres & Franco, 2013). Por lo tanto, identificar las características del microhábitat que permitan la supervivencia de las especies una vez que los bosques son perturbados es esencial para realizar acciones de conservación tanto a nivel de especie como a nivel de comunidad. Además de esto, la pérdida, degradación y fragmentación del hábitat pueden considerarse como factores potenciales de estrés de la vida silvestre (Johnstone et al., 2012). El estrés de un animal se define

como las respuestas fisiológicas que se presentan ante cambios impredecibles a corto o largo plazo en las condiciones ambientales (Buchanan, 2000). Actualmente la fisiología de la conservación (Stevenson et al., 2005; Wilkelski y Cooke, 2006) se encarga de abordar problemas ecológicos desde un enfoque fisiológico, especialmente los que se centran en el estrés, ya que éste es un factor importante para evaluar el bienestar de los animales. Una de las principales respuestas fisiológicas de los anfibios ante estímulos estresantes como la perturbación del hábitat, es el aumento de glucocorticoides en la sangre (corticosterona [CORT] en anfibios). Estas hormonas son producidas por las glándulas adrenales (glándula interrenal en anfibios) que forman parte del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA; HPI en anfibios) el cual ayuda a los animales a sobrevivir a contingencias ambientales mediante la movilización de reservas energéticas, así como en la modulación de la respuesta inmunológica y la supresión de respuestas fisiológicas no vitales como la reproducción (Sapolsky, 1993; Sapolsky et al., 2000). Es por ello que el estudio de los efectos del estrés sobre el bienestar, la salud y la reproducción de un organismo, se ha convertido en un objetivo primordial en la conservación de las especies (Romero, 2004).

Un método comúnmente utilizado para evaluar la respuesta al estrés ha sido la medición de los niveles de CORT en sangre (Moore y Jessop, 2003; Romero, 2004; Wikelski y Cooke, 2006). Sin embargo, los niveles de esta hormona son altamente sensibles a la manipulación de los animales, por lo que pueden ser indicadores poco confiables en estudios en campo. Los niveles de CORT correlacionan con cambios en la proporción de los leucocitos del sistema inmunológico de los vertebrados (Davis et al., 2008). Este método consiste en contabilizar los glóbulos blancos (leucocitos) presentes en la sangre de los animales (en anfibios: linfocitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos y monocitos), los cuales pueden ser cuantificados y relacionados con los niveles de hormonas a partir del perfil leucocitario. Adicionalmente, se pueden observar cambios

particulares en la proporción de dos tipos de leucocitos: los neutrófilos y los linfocitos (índice N/L). Por ello, el índice N/L (Davis et al., 2008) puede ser usado como indicador de la respuesta fisiológica de los organismos hacia agentes estresantes como la fragmentación y degradación del hábitat (Cabagna et al., 2005; Barni et al., 2007; Johnstone et al., 2012).

Más allá de los estudios que evalúan la respuesta en abundancia, riqueza y diversidad de las especies de anfibios, no está claro si la perturbación del hábitat tiene otros impactos sobre este grupo de especies, en particular sobre los niveles de estrés que pueden tener efectos negativos sobre los individuos y las poblaciones de anfibios (Homan et al., 2003; Janin et al., 2011). Así, el estado físico individual, estimado por indicadores fisiológicos como el perfil leucocitario y el estado hormonal podrían ser relevantes para este propósito, ya que proporcionan información integral sobre los efectos subletales de la degradación del hábitat sobre los individuos (Homan et al., 2003).

4. Capítulo I. Efecto de la perturbación antrópica en el uso del microhábitat de las especies

4.1 Niveles de organización del hábitat y la importancia del microhábitat

Un aspecto importante en la ecología es conocer cómo se distribuyen las especies y como es que esta distribución (i.e requerimientos específicos de espacio) puede estar influenciada por la disponibilidad y la diversidad de los hábitats. Para entender lo anterior es necesario conocer la historia natural de los organismos es decir, los recursos que requiere y sus interacciones con las demás especies así como la dinámica de sus poblaciones y los efectos de las condiciones del ambiente en los organismos (Begon, 2006).

El hábitat se define como el lugar que ofrece los recursos, condiciones físicas y estructurales adecuadas para la vida de un organismo y por tanto para su población (Savage, 1931; Mitchel, 2005). El hábitat puede ser específico para cada especie y depende de la preferencia de los organismos hacia características particulares en su entorno (Morrison et al. 1998; Garshelis, 2000; Storch, 2003). El hábitat tiene una amplia connotación, ya que pueden ser considerado hábitat para un individuo o un conjunto de individuos, por lo que si se quiere saber el uso que le dan las diferentes especies, es importante que se aborde su estudio de manera jerárquica, esto es, a diferentes escalas espaciales o temporales, ya que la influencia de los diversos factores ambientales y estructurales de gran escala puede ser muy diferente a la influencia de estos mismos a pequeña escala (Morris, 2003; Anderson, 2007).

Se reconocen cuatro tipos de escala para la medición del hábitat, dada por la selección, preferencia y disponibilidad de los recursos que las especies manifiestan. Las cuales van desde una escala mayor como lo es el **macrohábitat** que se relaciona a una característica a nivel de paisaje o hacia una asociación de vegetación o ecosistema, el **mesohábitat** que es un parche del hábitat en el cual se desarrollan distintas funciones de los organismos, dentro del macrohábitat pueden existir

distintos tipos de mesohábitats, este concepto nos ayuda a entender la variación espacio-temporal de los organismos a nivel de población; otro nivel del hábitat es el **microhábitat** que se refiere al sitio específico dentro del mesohábitat o macrohábitat; este sitio o parche es donde un organismo realiza actividades como el encuentro y adquisición de comida, evita y evade depredadores, hace frente y evita el estrés abiótico del ambiente, así como la obtención de una pareja y su reproducción; ejemplos de este puede ser una árbol o un arbusto. Y por último el **nanohábitat** que es el nivel más bajo del hábitat, este es un elemento del microhábitat, el cual hace referencia al punto exacto donde se encuentra el organismo y puede ubicarse sobre la superficie, bajo la superficie o dentro de cualquier objeto, el cual cuenta con condiciones específicas para el organismo y puede ser tan pequeño como el tamaño del animal, donde un comportamiento específico puede llevarse a cabo. Alguno de los muchos ejemplos de nanohábitat son: el sitio de refugio de un animal por ejemplo, una cueva, la grieta de un roca, la hoja o el envés de una hoja (Anderson, 2007).

Conocer las preferencias y uso de los organismos en las diferentes escalas del hábitat es importante ya que proporciona información tanto para entender la distribución de las especies y su historia de vida como para llevar a cabo acciones de manejo y conservación (Lindemayer y Fischer, 2006).

El uso de un microhábitat con características adecuadas es primordial para los distintos grupos de vertebrados, debido a los elevados costos asociados a una elección equivocada (Huey, 1991; Webb et al. 2004). Por ejemplo, si un animal elige un microhábitat térmicamente inadecuado, tendrá que enfrentarse a la reducción de rendimiento fisiológico (Huey, 1991). Diversos factores como el riesgo de depredación, disponibilidad de alimento y la competencia intraespecífica e interespecífica pueden influir en el estado físico de los animales y en consecuencia en la selección de microhábitat (Anderson, 2007). El uso del microhábitat también

puede ser afectado por variables individuales como la edad y el sexo de los individuos (Butler et al. 2007; Rocha, 1991; Converse y Savidge, 2003). El éxito reproductivo así como la sobrevivencia del individuo consiste en que este elija con el menor costo y mayor beneficio un lugar en el hábitat (Williams y McBrayer, 2007). Por otro lado, el uso diferencial del microhábitat puede restringir la transmisión de enfermedades de una especie a otra, especialmente si el periodo de infección es de vida corta o requiere de condiciones abióticas específicas (Pizzatto et al., 2014).

En vertebrados los patrones de uso de hábitat y la distribución espacial esta influenciados por múltiples factores: la complejidad del hábitat, las interacciones bióticas, las restricciones fisiológicas específicas y los parámetros abióticos (como las condiciones climáticas). Así como a la historia evolutiva de las especies que determinan las preferencias o restricciones del hábitat, producto de las interacciones ecológicas pasadas, como la depredación o competencia (Baber et al. 2004; Parris, 2004). De esta manera las especies limitan su presencia a unos pocos hábitats y ecosistemas de una amplia gama de tipos disponibles y tienen una respuesta diferencial en la preferencia o uso del hábitat (Morrison et al. 2008; Johnson et al. 2004), de la misma manera las actividades antropogénicas modifican el ambiente (Angelstam, 1996) y en consecuencia muchas especies pueden estar afectadas por este fenómeno ecológico a múltiples escalas espaciales (Mackey y Lindermayer, 2001).

4.2. Perturbación del hábitat y microhábitat

Se sabe que las especies siempre han estado bajo diversos regímenes de disturbio que han moldeado, sus historias de vida, por lo que el disturbio pasa a ser parte fundamental de los ecosistemas (Sousa, 1984; Pickett y White, 1985). Sousa (1984) define al disturbio como un evento discreto y puntual de mortalidad, desplazamiento o daño de uno más individuos que crea directa o indirectamente una oportunidad para el establecimiento de nuevos individuos. Esta definición da la idea de que en un disturbio se liberan recursos que pueden ser aprovechados por los organismos. y que si bien, los disturbios son casi siempre catastróficos, sirven a las especies como una fuente de heterogeneidad espacio temporal de la disponibilidad de recursos (fundamental para la permanencia de especies), además de que son agentes de la selección natural en las historias de vida de las especies. Y aunque los disturbios naturales (inundaciones, incendios, etc.) son eventos normales en muchos ecosistemas y en muchos casos benéficos para el mismo, los disturbios antropogénicos como la pérdida del hábitat, la fragmentación y la degradación se considera que son las principales amenazas para la diversidad biológica (Dirzo et al. 2001). En general, se ha documentado que la deforestación es un proceso que afecta de manera negativa la estructura y el funcionamiento de los ecosistemas. La reducción de la cubierta vegetal ocasiona problemas como modificaciones en los ciclos hídricos y cambios regionales de los regímenes de temperatura y precipitación, favoreciendo con ello el calentamiento global, la disminución en el secuestro de bióxido de carbono, así como la pérdida de hábitats o la fragmentación de ecosistemas (Brown y Lugo, 1990). La fragmentación de la vegetación tiene como consecuencia inmediata la reducción del hábitat para las especies, lo que puede ocasionar un proceso de defaunación o desaparición parcial o total de comunidades de algunos grupos como insectos, aves y mamíferos (Dirzo y García, 1992). Las relaciones bióticas y abióticas de las comunidades

también se pueden alterar en función del tamaño y la forma de los fragmentos, ya que al modificarse la distribución espacial de los recursos también se modifica su disponibilidad.

Las diferentes repuestas de los vertebrados a la perturbación del hábitat están bien documentadas (Dirzo y Garcia, 1992; Dirzo et al, 2011). En diversas especies de vertebrados, se sabe que las especies disminuyen la riqueza de sus poblaciones en presencia de un hábitat perturbado y esta asociación sugiere un efecto importante sobre las especies a través de la pérdida o modificación de los microhábitats utilizados para alimentarse (calidad y cantidad de alimento), ya que lo primero que se ve afectado cuando existe una modificación del hábitat son los recursos alimenticios (Suazo-Ortuño et al., 2008). Un aspecto que también se ve afectado son los microhábitats relacionados con el riesgo de depredación (disponibilidad de refugios), así como los sitios para la reproducción y sitios de percha. Por ejemplo, se ha observado en especies de las que se tiene un conocimiento previo sobre su biología (dieta, comportamiento de alimentación, comportamiento de reproducción, sitios de percha, etc.), la “misma respuesta” de un ambiente sano a uno perturbado no está garantizado, ya que las especies pueden cambiar totalmente su comportamiento cuando su hábitat natural se ve afectado (Jonhston et al., 2012). El efecto mayor de la perturbación sobre las especies es la desaparición o baja densidad de las poblaciones en lugares muy perturbados y quizá la pérdida de microhábitats es el factor que más contribuye en esta respuesta (Ferraz et al. 2005). Lo anterior podría generalizarse para vertebrados y para diversos tipos de ecosistemas (Wells, 2007), entre los que destacan el Bosque Tropical Seco (BTS), que se encuentra entre los ecosistemas más representativos en México y es además uno de los que presentan mayores tasas de perturbación y fragmentación.

4.3 Bosques Tropicales Secos, perturbación y uso del microhábitat

A pesar de que los bosques tropicales son uno de los biomas más estudiados, en especial los bosques tropicales lluviosos, el conocimiento sobre la ecología y conservación de los bosques tropicales secos (BTS) es aun escasa (Sánchez-Azofeifa et al., 2005). Las características únicas en las que se desarrollan estos bosques, representan desafíos para la vida, de tal manera que los organismos han desarrollado una gran diversidad de adaptaciones tanto morfológicas, fisiológicas y conductuales para poder habitar en ellos, favoreciéndose la diversidad biológica en estos bosques. De esta manera, los BTS poseen una alta diversidad biológica, así como una gran cantidad de especies endémicas y una gran diversidad de formas de vida y grupos funcionales además de que poseen una inusual diversidad beta, todas estas combinaciones hacen que estos bosques sean importantes tanto desde el punto de vista biogeográfico como de conservación (Dirzo et al., 2011).

Sin embargo y a pesar de lo que representan estos bosques, su cobertura original se ha reducido considerablemente, estimándose que el 48% de su superficie original ha sufrido cambios en el uso del suelo, lo que tiene consecuencias negativas en las especies y su diversidad genética, así como también en muchos procesos ecológicos, incluyendo la interacción de las especies. De acuerdo con varios autores, estas perturbaciones, tienen el potencial de afectar la estructura, diversidad y funcionamiento de los BTS (Dirzo et al., 2011), además de que genera nuevos microambientes, de los cuales algunos pueden ser beneficiosos para algunas especies, mientras que otros pueden ser tan nocivos que las especies pueden llegar a extinguirse o a desaparecer de sus ambientes naturales (Ferraz et al., 2005)

La formación de los bosques secundarios es una consecuencia de los disturbios tanto naturales como antropogénicos sobre los bosques primarios (Brown y Lugo, 1990). Según Kattan y Alvarez-Lopez (1996) estas perturbaciones cambian las condiciones naturales originales y se

producen efectos a tres niveles: el primero consiste en alteraciones microclimáticas (radiación solar, flujo de agua), el segundo son los efectos directos sobre la abundancia y distribución de los organismos; cambios en la estructura vegetal y las condiciones ambientales tienden a eliminar a especies especializadas en favor de las más sensibles, y el tercero consiste en las variaciones y alteraciones en las comunidades bióticas, debido a cambios en las interacciones de las especies. A pesar de que la deforestación de los BTS continua ocurriendo en la mayoría de las regiones del mundo (Hero y Shoo, 2003), grandes superficies del planeta están experimentando el crecimiento de bosques secundarios (Stokstad, 2008; Dent y Wringt, 2009), por lo que estos bosques están siendo cada vez más evaluados en su papel como reservorio y promotores de la diversidad biológica (Hero y Shoo, 2003). Los bosques secundarios pueden jugar un papel importante si mantienen microhábitats esenciales para las especies o si proporcionan nuevos microhábitats que sustituyan o amplíen los microhábitats utilizados para las especies en sus hábitats originales.

Aunque existen pocos estudios que han evaluado la relación entre los bosques secundarios y el microhábitat utilizado por las especies, existe evidencia que muestra que la perturbación de los bosques afecta el uso del microhábitat de las especies. La mayoría de estos estudios se basan en la relación de las variables ambientales y estructurales del microhábitat con la abundancia y riqueza de las especies que habitan tanto ambientes conservados y perturbados, ya que esto proporciona información de que tanto la perturbación ha afectado a las poblaciones en un ecosistema.

La pérdida, fragmentación y degradación de la cobertura natural generada por perturbaciones antropogénicas constituye la mayor amenaza para la supervivencia del organismo puesto que genera cambios en las variables ambientales y estructurales que influyen directamente en la calidad del hábitat. Al verse afectadas tales propiedades del hábitat se verán afectadas características importantes del microhábitat (temperatura, refugios, sitios de reproducción), las

cuales son esenciales para la distribución de las especies (Urbina-Cardona y Reynoso, 2011). Estas características son esenciales para ciertas especies que prefieren variables que determinan positivamente su presencia en sitios conservados con bajas temperaturas y una alta cobertura de hojarasca y un índice de humedad relativamente alto, características que solo sitios conservados pueden proveer y que sin ellos sus poblaciones se verán afectadas, tanto en su distribución como abundancia. Por otra parte existen las especies de áreas abiertas, esto es, aquellas que prefieren sitios con algún grado de perturbación, con características ecofisiológicas más resistentes y donde su distribución y abundancia no se ve afectada. La implicación de esta perturbación tiene como consecuencia es que las especies puedan elegir entre adaptarse a esos nuevos microambientes si sus requerimientos se lo permiten o morir a causa de los cambios que estas ejercen en su ambiente.

La generación de nuevos microambientes como efecto de la perturbación sobre los bosques genera en las especies la pérdida de sitios esenciales para su subsistencia, pero para muchas otras abre una brecha para que puedan recolonizar nuevos sitios para que sus poblaciones prosperen. De los requerimientos ecofisiológicos de las especies dependerá su sobrevivencia o su extinción. Muchas especies responden de distintas formas a los cambios microambientales dependiendo de sus rasgos funcionales y su plasticidad fisiológica. Estos cambios están determinados por las variables ambientales y estructurales que tienen un efecto diferencial dependiendo de la especie estudiada y del tipo de cobertura en el que habita. Especies sensibles a la perturbación son las más afectadas ya que sus microhábitats están ampliamente correlacionados con las variables ambientales y estructurales específicas ya que hábitats más conservados pueden generar una mayor diversidad de nichos y por lo tanto una mayor complejidad estructural, adicional a esto la fisiología de estas especies hace que estas estén limitadas a ciertos microambientes, aunado a la existencia de ciertos refugios donde las especies prosperan también va enganchado a los requerimientos específicos el microhábitat.

El cambio en el comportamiento de las especies a consecuencia de la fragmentación y destrucción del hábitat dependen además del ámbito hogareño, tamaño del cuerpo, patrones de búsqueda de recursos alimenticios y otros factores. En este sentido, se ha indicado que algunos organismos son tolerantes al uso de ambientes perturbados (Bennet, 2004).

La respuesta de las especies al efecto sinérgico de la perturbación trae consigo cambios en la tasa de crecimiento, capacidad reproductiva, ámbito hogareño, patrones de actividad y uso del microhábitat. Los disturbios pueden alterar la composición y abundancia de las especies en un área, y probablemente tengan más repercusiones en organismos especialistas del hábitat que en los organismos generalistas. Finalmente, dado el tiempo suficiente después de una perturbación, un conjunto de especies puede volver a las condiciones antes del disturbio, pero existe el potencial para las especies raras puedan ser eliminadas por completo por este tipo de eventos. Una especie tiene el potencial de ampliar su rango en el uso del microhábitat en relación a la disposición de recursos que hay después de un disturbio, por ejemplo se ha reportado que tras la deforestación de un bosque algunas especies aumentan su abundancia por el incremento de presas disponibles. En contraste el número de otras especies desaparecen o sus abundancias se vuelven menores inmediatamente después del paso del disturbio, muchas especies susceptibles a cambios tan drásticos en las condiciones ambientales sufren los efectos que los disturbios tienen sobre el ambiente, ya que sus requerimientos ecofisiológicos les impiden subsistir a tales ambientes. También se ha reportado que especies de hábitats abiertos o perturbados utilizan la matriz del disturbio para dispersarse dentro del hábitat conservado donde normalmente no serían encontradas. Otras especies exhiben considerable plasticidad en escoger los sitios de reproducción y fueron capaces de reproducirse en todos los tipos de hábitat. Las especies también se pueden ver forzadas a modificar el uso del microhábitat por especies que ejercen dominancia en la comunidad, sin embargo, algunas especies dominantes pueden ser removidas de la comunidad

siendo reemplazadas por especies subdominantes en ambientes perturbados, afectando en algunos casos la habilidad de la comunidad para recuperar su configuración original previa al disturbio (Krebs, 1998). Un efecto directo de la perturbación sobre la estructura del hábitat es que este genera una heterogeneidad ambiental diversa, lo cual genera una gran cantidad de microhábitats disponibles para las especies, los cuales son ocupados por especies oportunistas ya que estas cambian el uso de su microhábitat, cuando las condiciones del ambiente son más favorables para ellas (Macip-Rios y Muñoz-Alonso, 2008). La pérdida de hábitat ejerce un efecto deletéreo sobre las especies que habitan el bosque (Saunders et al, 1991). Aquellas especies afines a áreas abiertas tienden a reemplazar las especies de hábitats boscosos (Vargas y Bolaños, 1999). Y es por ello que en el bosque secundario se presenta la mayor riqueza de especies. Sin embargo, cuando la competencia entre algunas especies se relaja, se presenta una expansión del nicho para alguna de ellas con respecto a la percha, el microclima sobre el microhábitat y la dieta (Heatwole, 1982). De esta manera, las especies afines a áreas abiertas, presentarían una alta habilidad para hacer frente al cambio en las variables bióticas y abióticas en su microhábitats y por consiguiente se habrían adaptado más fácilmente a la fragmentación de su entorno, y se verían poco afectadas por la perturbación (Urbina-C y Londoño-M, 2003). El que una especie use nuevos microhábitats o amplíe su rango de uso depende de lo que la especie necesite para su sobrevivencia, pero también dependerá de las condiciones del hábitat y si éstas son o no favorables para ella, porque como ya se había discutido, la distribución espacial de las especies está dada por la interacción entre los requerimientos fisiológicos de los organismos, la disponibilidad de recursos (comida, refugio, sitios de reproducción, etc.) y las características físicas del hábitat. Así como los requerimientos de las especies por un microhábitat adecuado para desempeñar diferentes tareas (refugio, reproducción, etc.). Sin embargo, se debe tener en cuenta que para algunas especies la perturbación antropogénica genera estrés, reduce y afecta algunos procesos fisiológicos como la

digestión y el crecimiento (Lillywhite 1987). De esta forma la perturbación del hábitat afecta de manera distinta a las especies, genera cambios en la dominancia de especies, así como otros procesos que afectan la estructura de la población.

4.4 Perturbación, microhábitat y estrés en los organismos.

Como se ha discutido, la perturbación del hábitat ocasiona cambios en el uso del microhábitat de muchas especies animales. Estos cambios pueden ser agentes estresores y contribuir a la declinación de especies de vertebrados (Keisecker 2011). Cuando un animal percibe un estímulo como “estresante” (estímulo nocivo que provoca temor, ansiedad o inquietud), ocurren cambios fisiológicos en su organismo para enfrentar el problema (Wingfield et al. 1997). Una de las principales respuestas fisiológicas a estímulos estresantes en los vertebrados es un aumento en los niveles en plasma de hormonas glucocorticoides tales como corticosterona en anfibios (Moore y Jessop 2003; Romero 2004). Esta respuesta inmediata tiene la finalidad de huir del o enfrentar al agente estresante (Knol 1991; Nelson 2000). Los glucocorticoides promueven la glucogenólisis, proceso por el cual se libera glucosa al torrente sanguíneo permitiendo su captación por los músculos, incrementando por ejemplo el tono cardiovascular. En conjunto estos cambios, en respuesta a los factores estresantes, permiten el sostenimiento de la respuesta inicial de huida o el enfrentamiento por períodos aún más prolongados (Axelrod y Reisine 1984). La respuesta fisiológica al estrés momentáneo (estrés agudo) es considerada adaptativa porque dirige la energía del organismo a las funciones que maximizan su sobrevivencia y pospone las que no son necesarias en el momento (von Holst 1998). Sin embargo, si el factor estresante no desaparece (estrés crónico) y los glucocorticoides permanecen elevados por más de algunos días, se provoca una amplia variedad de consecuencias negativas (Sapolsky 1992). Estos efectos negativos aparecen como patologías en el largo plazo e incluyen la depresión del sistema inmune,

favoreciendo un incremento en la susceptibilidad a enfermedades (Munck et al. 1984); la inhibición de la reproducción (Ferin 1999; Wingfield y Sapolsky 2003); la pérdida de tejido muscular y el decremento en la capacidad de aprendizaje (McEwen y Sapolsky 1995; Ohl y Fuchs 1999)

El incremento en los niveles de hormonas glucocorticoides también afecta múltiples sistemas fisiológicos en el cuerpo, como lo es la modificación en el número de leucocitos, particularmente los cambios en la proporción de dos de ellos: Neutrófilos y Linfocitos (Índice N/L). Esto se ve reflejado en el incremento del número de Neutrófilos, mientras que al mismo tiempo disminuye el número de Linfocitos (Davis et al. 2008; Davis y Maerz 2010). El índice Neutrófilos/Linfocitos (Índice N/L) (Davis et al. 2008) es un componente fisiológico que se puede usar como parámetro indicativo de poblaciones provenientes de sitios contaminados (Cabagna et al. 2005; Barni et al. 2007) y la manera en la cual los organismos responden diferencialmente hacia agentes estresantes como la fragmentación y degradación del hábitat (Johnstone et al. 2012) se puede observar en el cambio en la población de leucocitos o células blancas del sistema inmune del organismo. Dado el efecto que el estrés tiene sobre el bienestar, la salud y la reproducción de un organismo, la determinación del estrés fisiológico se ha convertido en un objetivo primordial en la conservación de las especies (Romero 2004).

El estado físico individual, estimado por indicadores fisiológicos como, el perfil leucocitario y el estado hormonal, podría ser relevante para este propósito, ya que proporciona información integral sobre los efectos subletales de la degradación del hábitat sobre los individuos (Homan et al. 2003).

Los glucocorticoides se han implementado como una herramienta en el monitoreo de la salud y las repuestas de las especies en ambientes perturbados (Creel et al. 2002). La “Cort-Fitness

Hypotesis (Hipótesis Glucocorticoides-Adecuación)” sugiere que niveles altos de glucocorticoides basales son una señal de que individuos o poblaciones se encuentran en las peores condiciones, con una reducción en la aptitud relativa, en comparaciones con individuos o poblaciones con niveles más bajos de glucocorticoides. En sitios perturbados en los que las especies no se encuentran en los microhábitats óptimos se esperaría que los glucocorticoides, aumenten en respuesta a las necesidades energéticas asociadas a los problemas ambientales, tales como la limitación de recursos o condiciones climáticas adversas (Bornier et al. 2009). Por el contrario si las especies encuentran microhábitats que satisfacen sus requerimientos, aunque estos sean diferentes a los microhábitats utilizados en sus sitios prístinos, es de esperarse que presenten bajos niveles de estrés fisiológico.

4.5 Conclusión

De todo lo anterior, resulta evidente que la distribución espacial de las especies juega un papel importante en la ecología, conocer las preferencias del hábitat para cada especie es importante ya que este refleja la preferencia de los organismos hacia características particulares en su entorno. Sin embargo, si se quiere saber el uso que las especies le dan es importante abordarlo de manera jerárquica, esto es, a diferentes escalas espaciales o temporales, ya que a la influencia de los diversos factores ambientales y estructurales de gran escala puede ser muy diferente a la influencia de estos mismos a menor escala. Por lo que se reconocen cuatro tipos de escalas para la medición del hábitat, dada por la selección, preferencias y disponibilidad de los recursos que las especies manifiestan. Las cuales van desde una escala mayor como lo es el macrohábitat, seguido del mesohábitat, hasta las escalas menores que son el microhábitat y el nanohábitat; estas últimas dos son de gran importancia ya que el uso de un microhábitat con características adecuadas es primordial para las especial debido a los elevados costos asociados a una elección equivocada (i.e.

reducción de un rendimiento fisiológico, riesgo de depredación, disponibilidad de alimento, etc.), también hay que tomar en cuenta que el uso del microhábitat puede estar influenciado por variables individuales como la edad y el sexo de los individuos.

En vertebrados los patrones de uso de hábitat y la distribución espacial esta influenciados por múltiples factores: la complejidad del hábitat, las interacciones bióticas, las restricciones fisiológicas específicas y los parámetros abióticos (como las condiciones climáticas). De esta manera las especies limitan su presencia a unos pocos hábitats y ecosistemas de una amplia gama de tipos disponibles y tienen una respuesta diferencial en la preferencia o uso del hábitat, de la misma manera las actividades antropogénicas modifican el ambiente y en consecuencia muchas especies pueden estar afectadas por este fenómeno ecológico a múltiples escalas espaciales.

Las perturbaciones antropogénicas como la pérdida del hábitat, la fragmentación y la degradación se consideran como las principales amenazas para la diversidad biológica, ya que estos afectan de manera negativa la estructura y funcionamiento de los ecosistemas. El efecto mayor de la perturbación sobre las especies es la desaparición o baja densidad de las poblaciones en lugares muy perturbados y quizá la pérdida de microhábitats es el factor que más contribuye en esta respuesta. Lo anterior podría generalizarse para vertebrados y para diversos tipos de ecosistemas, entre los que destacan el Bosque Tropical Seco (BTS), que se encuentra entre los ecosistemas más representativos del país y es además uno de los que presentan mayores tasas de perturbación y fragmentación. La perturbación de los BTS genera nuevos microambientes, algunos pueden ser beneficiosos para algunas especies, mientras que otros pueden ser tan nocivos que las especies pueden llegar a extinguirse o a desaparecer de sus ambientes naturales. A pesar de que la deforestación de los BTS continua ocurriendo en la mayoría de las regiones del mundo, grandes superficies del planeta están experimentando el crecimiento de bosques secundarios, por lo que estos bosques están siendo cada vez más evaluados en su papel como reservorio y promotores

de la diversidad biológica. Los bosques secundarios pueden jugar un papel importante si mantienen microhábitats esenciales para las especies o si proporcionan nuevos microhábitats que sustituyan o amplíen los microhábitats utilizados para las especies en sus hábitats originales. Aunque existen pocos estudios que han evaluado la relación entre los bosques secundarios y el microhábitat utilizado por las especies, existe evidencia que muestra que la perturbación de los bosques afecta el uso del microhábitat de las especies. La mayoría de estos estudios se basan en la relación de las variables ambientales y estructurales del microhábitat con la abundancia y riqueza de las especies que habitan tanto ambientes conservados y perturbados, ya que esto proporciona información de que tanto la perturbación ha afectado a las poblaciones en un ecosistema. La pérdida, fragmentación y degradación de la cobertura natural generada por perturbaciones antropogénicas constituye la mayor amenaza para la supervivencia del organismo puesto que genera cambios en las variables ambientales y estructurales que influyen directamente en la calidad del hábitat. Al verse afectadas tales propiedades del hábitat se verán afectadas características importantes del microhábitat (temperatura, disponibilidad de refugios y sitios de reproducción), las cuales son esenciales para la distribución de las especies. La generación de nuevos microambientes como efecto de la perturbación sobre los bosques genera en las especies la pérdida de sitios esenciales para su subsistencia, pero para muchas otras abre una brecha para que puedan recolonizar nuevos sitios para que sus poblaciones prosperen. De los requerimientos ecofisiológicos de las especies dependerá su sobrevivencia o su extinción. Muchas especies responden de distintas formas a los cambios microambientales dependiendo de sus rasgos funcionales y su plasticidad fisiológica. Estos cambios están determinados por las variables ambientales y estructurales que tienen un efecto diferencial dependiendo de la especie estudiada y del tipo de cobertura en el que habita. Especies sensibles a la perturbación son las más afectadas ya que sus microhábitats están ampliamente correlacionados con las variables ambientales y estructurales específicas ya que

hábitats más conservados pueden generar una mayor diversidad de nichos y por lo tanto una mayor complejidad estructural, adicional a esto la fisiología de estas especies hace que estas estén limitadas a ciertos microambientes, aunado a la existencia de ciertos refugios donde las especies prosperan también va enganchado a los requerimientos específicos el microhábitat.

La respuesta de las especies al efecto sinérgico de la perturbación trae consigo cambios en la tasa de crecimiento, capacidad reproductiva, rango de hogar, patrones de actividad y uso del microhábitat. Una especie tiene el potencial de ampliar su rango en el uso del microhábitat en relación a la disposición de recursos que hay después de un disturbio, especies de hábitats abiertos o perturbados utilizan la matriz del disturbio para dispersarse dentro del hábitat conservado, donde normalmente no serían encontradas, tal vez porque en esos ambientes encuentra los recursos o condiciones para su subsistencia. Otras especies exhiben considerable plasticidad en escoger los sitios de reproducción y fueron capaces de reproducirse en todos los tipos de hábitat. Las especies también se pueden ver forzadas a modificar el uso del microhábitat por especies que ejercen dominancia en la comunidad, sin embargo, algunas especies dominantes pueden ser removidas de la comunidad siendo reemplazadas por especies subdominantes en ambientes perturbados, afectando en algunos casos la habilidad de la comunidad para recuperar su configuración original previa al disturbio. Un efecto directo de la perturbación sobre la estructura del hábitat es que este genera una heterogeneidad ambiental diversa, lo cual genera una gran cantidad de microhábitats disponibles para las especies, los cuales son ocupados por especies oportunistas ya que estas cambian el uso de su microhábitat, cuando las condiciones del ambiente son más favorables para ellas.

Sin embargo, cuando la competencia entre algunas especies se relaja, se presenta una expansión del nicho para alguna de ellas con respecto a la percha, el microclima sobre el microhábitat y la dieta. De esta manera, las especies afines a áreas abiertas, presentarían una alta

habilidad para hacer frente al cambio en las variables bióticas y abióticas en su microhábitat y por consiguiente se habrían adaptado más fácilmente a la fragmentación de su entorno, y se verían poco afectadas por la perturbación. También se debe tener en cuenta que para algunas especies la perturbación antropogénica genera estrés, reduce y afecta algunos procesos fisiológicos como la digestión y el crecimiento. De esta forma la perturbación del hábitat afecta de manera distinta a las especies, genera cambios en la dominancia de especies, así como otros procesos que afectan la estructura de la población.

Como se ha discutido, la perturbación del hábitat ocasiona cambios en el uso del microhábitat de muchas especies animales. Estos cambios pueden ser agentes estresores y contribuir a la declinación de especies de vertebrado. Una de las principales respuestas fisiológicas a estímulos estresantes en los vertebrados es un aumento en los niveles en plasma de hormonas glucocorticoides tales como corticosterona en anfibios. Dado el efecto que el estrés tiene sobre el bienestar, la salud y la reproducción de un organismo, la determinación del estrés fisiológico se ha convertido en un objetivo primordial en la conservación de las especies. En sitios perturbados en los que las especies no se encuentran en los microhábitats óptimos se esperaría que los glucocorticoides, aumenten en respuesta a las necesidades energéticas asociadas a los problemas ambientales, tales como la limitación de recursos o condiciones climáticas adversas. Por el contrario si las especies encuentran microhábitats que satisfacen sus requerimientos, aunque estos sean diferentes a los microhábitats utilizados en sus sitios prístinos, es de esperarse que presenten bajos niveles de estrés fisiológico.

4.6 Literatura citada

- Anderson, R. A. (2007). Food acquisition modes and habitat use in lizards: questions from an integrative perspective. 450-490 in *Lizard Ecology: the evolutionary consequences of foraging mode* (S. M. Reilly, L. D. McBrayer, and D.B. Miles, editors). Cambridge University Press, London, United Kingdom.
- Angelstam, P. (1996). The ghost of forest past—natural disturbance regimes as a basis for reconstruction of biologically diverse forests in Europe. In *Conservation of faunal diversity in forested landscapes* (pp. 287-337). Springer Netherlands.
- Axelrod, J. y Reisine, T.D. (1984). Stress hormones: their interaction and regulation. *Science*, 224, 452-459.
- Baber, M. J., Fleishman, E., Babbitt, K.J. y Tarr, T.L. (2004). The relationship between wetland hydroperiod and nestedness patterns in assemblages of larval amphibians and predatory macroinvertebrates. *Oikos*, 107, 16–27.
- Barni, S., Boncompagni, E., Grosso, A., Bertone, V., Freitas, I., Fasola, M. y Fenoglio, C. (2007). Evaluation of *Rana esculenta* blood cell response to chemical stressors in the environment during the larval and adult phases. *Aquatic Toxicology*, 81, 45-54.
- Begon, M. (2006). *Ecology: from individuals to ecosystem*. 4th ed.
- Bennett, A. (2004). *Enlazando el paisaje: El papel de los corredores y la conectividad en la conservación de la vida silvestre*. San José CR, IUCN. 276 p.
- Bonier, F., Martin, P.R., Moore, T.I. y Wingfield, C.J. (2009). Do baseline glucocorticoids predict fitness? *Trend in Ecology and Evolution*. Vol. 24. No.11.
- Brown, S. y Lugo, E. (1990). Tropical Secondary Forest. *Journal of Tropical Ecology*, 6, 1-32.
- Butler, M. A., Sawyer, S. A. y Losos, J. B. (2007). Sexual dimorphism and adaptive radiation in *Anolis* lizards. *Nature*, 447, 202-205.

- Cabagna, Z. y Lajmanovich, R.C. (2009). Primeros registros de endoparásitos en cinco especies de anfibios anuros del litoral argentino. *Cuadernos de Herpetologia*, 23(1), 33-40.
- Converse, S. J. y Savidge, J. A. (2003). Ambient temperature, activity, and microhabitat use by Ornate Box Turtles (*Terrapene ornata ornata*). *Journal of Herpetology*, 37, 665- 670.
- Creel, S., Fox, E.J., Hardy, A., Sands, J., Garrott, B., y Peterson, O.R. (2002). Snowmobile activity and glucocorticoid stress responses in wolves and Elk. *Conservation Biology*, 16, 809–814.
- Davis, A.K y Maerz, J. C. (2010). Effects of exogenous corticosterone on circulating leukocytes of a salamander (*Ambystoma talpoideum*) with unusually abundant eosinophils. *International Journal of Zoology*.
- Davis, A.K., Maney, D. L. y Maerz, J.C. (2008). The use of leukocyte profile to measure stress in vertebrate: a review for ecologist. *Functionality Ecology* 22:760-772.
- Dent, D. H., y Wright, S. J. (2009). The future of tropical species in secondary forests: a quantitative review. *Biological conservation*, 142(12), 2833-2843.
- Dirzo, R., Young, S.H., Mooney, A.H. y Ceballos, G. (2011). *Seasonally Dry Tropical Forest*. Island Press.
- Dirzo, R. y García M. (1992). Rates of deforestation in los Tuxtlas, a neotropical area in southeast México. *Conservation Biology* 6, 84-90.
- Ferraz, S. F., Vettorazzi, C. A., Theobald, D. M., y Ballester, M. V. R. (2005). Landscape dynamics of Amazonian deforestation between 1984 and 2002 in central Rondônia, Brazil: assessment and future scenarios. *Forest Ecology and Management*, 204(1), 69-85.
- Ferin, M. (1999). Stress and the reproductive cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 84, 1768-1774.
- Fischer, J. y Lindenmayer, B.D. (2007). Landscape modification and hábitat fragmentation: a synthesis. *Global Ecology and Biogeography*. 16,265-280.

- Fischer, J. y Lindenmayer B.D. (2006). Beyond fragmentation: the continuum model for fauna research and conservatin in human-modified landcapas. *Oikos*, 112,473-480.
- Garshelis, D.L. (2000). Delusions in habitat evaluation: measuring use, selection, and importance. Pp. 111–164. En: Boitani, L. y T.K. Fuller (eds.). *Research techniques in animal ecology: controversies and consequences*. Columbia University Press, New York.
- Heatwole, H. (1982). A review of structuring in herpetofaunal assemblages. *Herpetological Communities*, ed. N.J. Scott, Jr. 1-19. *Wildlife Research Report* 13.
- Hero, J.M. y Shoo, L. (2003). Conservation of amphibians in the Old World tropics: defining unique problems associated with regional fauna. In *Amphibian Conservation*, 70-84. Semlitsch, R. D. (Ed). Smithsonian Institution Press, Washington, D.C.
- Homan, R.N., Regosin, J.V., Rodrigues, D.M., Reed, J.M., Windmiller, B.S. y Romero, L.M., (2003). Impacts of varying habitat quality on the physiological stress of spotted salamanders (*Ambystoma maculatum*). *Animal Conservation* 6:11–18.
- Huey, R. B. (1991). Physiological consequenses of habitat selection. *American Naturalist* 137: S91-S115.
- Johnson, C.J., Boyce, M.S., Mulders, R., Gunn, A., Gau, R.J., Cluff, H.D. y Case, R.L. (2004). Quantifying patch distribution at multiple scales: applications to wildlife–habitat models. *Landscape Ecology* 19:869–882.
- Johnstone, P., Lill A. y Reina R.D. (2012). Does habitat fragmentation cause stress in the agile antechinus? A hematological approach. *Journak of Comparative Physiology B* 182: 139-155.
- Kattan, G. H. y Álvarez H. (1996). Preservation and management of diversity in fragmented landscapes islands. Págs 3-18 en: J. Schethas & K. Greenberg. *Forest Patches in Tropical Landscapes*. Island Press, Washington D. C.

- Lillywhite, H. B. (1987). Circulatory adaptations of snakes to gravity. *American Zoologist*, 27(1), 81-95.
- Kiesecker, M.J. (2011). Global stressors and the global decline of amphibians: tipping the stress immunocompetency axis. *Ecol Res* (2011)26:897-908.
- Knol B.W. (1991). Stress and the endocrine hypothalamus-pituitary-testis systems: a review. *Vet. Quart.* 13: 104-114.
- Krebs, C. J. (1998). *Ecological Methodology*. University of British Columbia. Second Edition Eddison Wesley Longman. Estados Unidos. 620 pp.
- Macip-Ríos, R., y Muñoz-Alonso, A. (2008). Diversidad de lagartijas en cafetales y bosque primario en el Soconusco Chiapaneco. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 79:185-195.
- Mackey, B. G., y Lindenmayer, D. B. (2001). Towards a hierarchical framework for modelling the spatial distribution of animals. *Journal of Biogeography*, 28(9), 1147-1166.
- McEwen, B.S. y Sapolsky, R.M. (1995). Stress and cognitive function. *Curr. Opin. Neurobiol.* 5: 205-216.
- Mitchell, S.A. (2005). How useful is the concept of habitat?—a critique. *Oikos* 110:634–638.
- Moore I.T., y Jessop, T.S. (2003). Stress, reproduction, and adrenocortical modulation in amphibians and reptiles. *Hormones and Behavior* 43, 39–47.
- Morris, W.D. (2003). Toward an ecological synthesis: a case for hábitat selection.
- Morrison, M.L., Block, W.M., Strickland, M. D., Collier, B.A., y Peterson, M.J. (2008). *Wildlife study design*. 2a. ed. Springer Series on Environmental Management, New York.
- Morrison, M.L., Marcot, B.G. y Mannan, R.W. (1998). *Wildlife habitat relationships: concepts and applications* (2a. ed.). The University of Wisconsin Press. Madison, Wisconsin.
- Munck, A., Guyre, P.M., y Holbrook, N.J. (1984). Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocrinol. Rev.* 5: 25-44.

- Nelson, R.J. (2000). An introduction to behavioral endocrinology. Sinauer Ass. Inc. Pub. Massachusetts, EUA. 724 pp.
- Ohl, F. y Fuchs, E. (1999). Differential effects of chronic stress and memory processes in the tree shrew. *Brain. Res. Cogn. Brain. Res.* 7: 379-387.
- Parris K.M. 2004. Environmental and spatial variables influence the composition of frog assemblages in subtropical Eastern Australia. *Ecography* 27:392-400.
- Pickett, S. T. A. y White, P. S. (1985). *The Ecology of Natural Disturbance and Patch Dynamics*. Academic Press, EE.UU., 472 pp.
- Pizzato, L., Both C., y Shine, R. (2014). Quantifying Anuran Microhabitat Use to Infer the Potential for Parasite Transmission between Invasive Cane Toads and Two Species of Australian Native Frogs. *Plos One*. Volume 9.
- Rocha, C. F. (1991). Composição do habitat e uso do espaço por *Liolaemus lutzae* (Sauria: Iguanidae) em uma área de Restinga. *Revista Brasileira de Biologia* 51: 839-845.
- Romero L.M., 2004. Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research. *Trends in Ecology and Evolution* 19, 249–255.
- Sánchez-Azofeifa, G. A., Quesada, M., Rodríguez, J. P., Nassar, J. M., Stoner, K. E., Castillo, A. y Cuevas-Reyes, P. (2005). Research Priorities for Neotropical Dry Forests. *Biotropica*, 37(4), 477-485.
- Sapolsky, R.M. (1992). Neuroendocrinology of the stress response. Pp 287-324. En: Becker, J.B., S.M. Breedlove, D. Crews, M.M. McCarthy (Eds.). *Behavioral Endocrinology*. Massachusetts Institute of Technology Press. Nueva York, EUA.
- Saunders, D. A., Hobbs, R. J., y Margules, C. R. (1991). Biological consequences of ecosystem fragmentation: a review. *Conservation biology*, 18-32.

- Savage, R.E. (1931) The relation between the feeding of the herring off the east coast of England and the plankton of the surrounding waters, *Fish. Invest.* 12, 1-88.
- Sousa, W. P. (1984). The role of disturbance in natural communities. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15:353-391.
- Stokstad, E. (2008). A second Chance for Rainforest Biodiversity. *Science* 320:1436-1438.
- Storch, I. 2003. Linking a multiscale habitat concept to species conservation. Pp. 303–320. En: Bissonette, J.A. e I. Storch (eds.). *Landscape ecology and resource management: linking theory with practice*. Island Press, Washington, D.C.
- Suazo- Ortuño, I., Alvarado-Díaz, J. J., y Martínez, R. M. (2009). Effects of conversión of dry tropical forest to agricultural mosaic on herpetofaunal assemblajes. *Conservation Biology*, volume 22. No 2, 362-374.
- Trejo, I., y Dirzo, R. (2000). Deforestation of seasonally dry tropical forest: a national and local analysis in Mexico. *Biological Conservation*, 94(2), 133-142.
- Urbina-Cardona, J.N., y Londoño-M, M.C. (2008). Distribución de la comunidad de herpetofauna asociada a cuatro áreas con diferente grado de perturbación en la Isla Gorgona, Pacífico colombiano. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 27(102):105-113. 2003. ISSN 0370-3908.
- Urbina Cardona, J. N., y Reynoso, V. H. (2011). Descripción y modelado del microhábitat de los anfibios y reptiles que habitan la selva alta perennifolia de Los Tuxtlas. Págs. XX-XX, en, Reynoso, V. H. y R. I. Coates (eds.), *Avances y Perspectivas en la Investigación de los Bosques Tropicales y sus Alrededores: la Región de Los Tuxtlas*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.
- Vargas, F., y Bolaños, M. E. (1999). Anfibios y reptiles presentes en hábitats perturbados de selva lluviosa tropical en el bajo Anchicayá, Pacífico colombiano. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 23, 499-511.

- von Holst D. (1998). The concept of stress and its relevance for animal behavior. *Adv. Stud. Behav.* 27: 1-131.
- Webb, J. K., Pringle, R. M. y Shine, R. (2004). How do nocturnal snakes select diurnal retreat sites? *Copeia* 2004:919-925.
- Wells, D.K. (2007). *The Ecology & Behavior of Amphibians*. The University of Chicago Press.
- Williams, S. C., y McBrayer, L. D.. (2007). Selection of microhabitat by the introduced mediterranean gecko, *Hemidactylus turcicus*: influence of ambient light and distance to refuge. *The Southwestern Naturalist* 52 (4): 578-585.
- Wingfield, J.C. y Sapolsky R.M. (2003). Reproduction and resistance to stress: when and how. *J. Neuroendocrinol.* 15: 711-724.
- Wingfield, J.C., Hunt, K., Breuner, C., Dunlap, K., Fowler, G.S., Freed, L. y Lepson, J. (1997). Environmental stress, field endocrinology, and conservation biology. Pp. 95 131. En: Buchholz, J.R. & R. Clemmons (Eds.). *Behavioral Approaches to Conservation in the Wild*. Cambridge Univ. Press. Cambridge, EUA.

5. Capítulo II. Efecto de los estadios sucesionales del bosque tropical seco sobre el microhábitat usado por dos especies de ranas (*Agalychnis dacnicolor* y *Smilisca fodiens*).

5.1 RESUMEN

Por sus atributos biológicos los anfibios son dependientes de las características estructurales y ambientales del hábitat. Sin embargo, la mayoría de los hábitats en los que ocurren están siendo destruidos por las actividades humanas. La perturbación del hábitat puede modificar el microhábitat y tener un efecto importante en la abundancia y distribución de las especies, en particular en aquellas con microhábitats específicos. En el presente estudio evaluamos cambios en el uso del microhábitat de dos especies sintópicas de ranas arborícolas *Agalychnis dacnicolor* y *Smilisca fodiens* a lo largo de un gradiente sucesional del Bosque Tropical Seco (BTS). Nuestra hipótesis fue que debido a que estas dos especies son generalistas de hábitat modificarían el uso del microhábitat en respuesta a la sucesión secundaria del BTS y la temporada climática. Aunque ambas especies se registraron en los bosques secundarios y en los bosques maduros, *A. dacnicolor* prefirió el bosque maduro mientras que *S. fodiens* prefirió los lugares perturbados. Ninguna de las dos especies presentaron diferencias en biomasa entre los estadios sucesionales (ES), ni entre temporadas climáticas (TC). A diferencia de *S. fodiens* la rana *A. dacnicolor* presentó mayores tallas durante la temporada de lluvias. La temperatura corporal de ambas especies varió entre ES y TC. *S. fodiens* presentó una temperatura mas constante entre individuos en los pastizales, mientras que *A. dacnicolor* en los bosques maduros. Las variables ambientales y estructurales del hábitat que influenciaron la presencia de ambas especies dentro de los diferentes ES fueron la temperatura del sustrato, altura del árbol o arbusto donde se encontraba perchando el individuo y los porcentajes de cobertura de hojarasca, herbáceas, arbustos, árboles y suelo desnudo. Las variables que mejor explicaron la biomasa, la LHC y la temperatura corporal de *S. fodiens* fueron las ramas secas y la temperatura del sustrato y en *A. dacnicolor* la biomasa estuvo mejor explicada por las

herbáceas, la LHC la altura del árbol o arbusto, y la temperatura corporal por la temperatura del sustrato. Ambas especies usaron de manera diferencial las variables ambientales y estructurales del microhábitat conforme los ES aumentaron en edad. Las variables que separaron a las especies fueron la altura del refugio y el porcentaje de árboles en los diferentes ES. *A. dacnicolor* mantuvo preferencia por los estratos mas bajos de la vegetación, mientras que *S. fodiens* mostró una amplia plasticidad en el uso del microhábitat, en particular modificó el uso en la altura del refugio. Nuestros resultados sugieren que aun y cuando ambas especies han sido consideradas especies generalistas de hábitat, en los paisajes antropizados la rana *A. dacnicolor* es una especie especialista del microhábitat y *S. fodiens* es una especie con mayor plasticidad ecológica en el uso del microhábitat. Estas diferencias en el uso del microhábitat en respuesta a la perturbación del hábitat pueden ayudar a explicar el éxito de las especies en estos nuevos paisajes, así como la importancia de los bosques secundarios en distintas etapas de sucesión para mantener microhábitas adecuados para la permanencia de las especies en los paisajes antropizados.

5.2 Abstract

Due to their biological traits amphibians are sensitive to the structural and environmental features of habitats. However, most of the habitats where they occur are being destroyed by human activities. Habitat disturbance can modify microhabitats and therefore have a significant effect on the abundance and distribution of species, particularly those associated to specific microhabitats. In this study we evaluated changes in microhabitat use of two syntopic species of tree frogs, *Agalychnis dacnicolor* and *Smilisca fodiens* along a successional gradient of Tropical Dry Forest. We hypothesized that because these two species are habitat generalists, microhabitat use would change in response to the secondary forest succession and to climatic season (CS) of the year. Although both species were registered in both secondary forests and old growth forests, *A. dacnicolor* preferred the mature forest while *S. fodiens* preferred disturbed sites. Neither species

showed differences in biomass among successional stages (SE) or between CS. Unlike *S. fodiens*, *A. dacnicolor* presented larger sizes during the rainy season. Body temperature of both species varied between SE and CS. *S. fodiens* presented a more constant temperature among individuals in pastures, while *A. dacnicolor* in mature forests. Environmental and structural habitat variables that influenced the presence of both species among SE were the substrate temperature, height of tree or shrub where the frog was perching and percentage cover of litter, grasses, shrubs, trees and bare soil. The variables that best explained the biomass, the LHC and body temperature of *S. fodiens* were cover of dry branches and the substrate temperature, whereas *A. dacnicolor* biomass was better explained by cover of herbs, LHC, height of the tree or shrub where the frog was perching, body temperature and the substrate temperature. Both species used differentially environmental and structural variables of microhabitats along the gradient of initial to late SE. The variables that separated the species were the height of the shelter and the percentage of trees in different SE. While *A. dacnicolor* preferred the lowest strata of vegetation, *S. fodiens* showed plasticity in microhabitat use, especially in height of shelter. Our results suggest that even when both species are considered habitat generalists, in anthropic landscapes the frog *A. dacnicolor* is specialist in microhabitat use, whereas *S. fodiens* is a species with greater ecological plasticity in microhabitat use. These differences in microhabitat use in response to habitat disturbance may help explain the success of these species in these new landscapes as well as the importance of secondary forests in different stages of succession to maintain adequate microhabitats for the permanence of species in anthropogenic landscapes.

5.3 Introducción

A nivel global las poblaciones de anfibios están experimentando un declive masivo, algunas de las causas son la introducción de especies exóticas, enfermedades emergentes, contaminantes

químicos, cambio climático global y la transformación del hábitat ya sea por degradación, pérdida o fragmentación (Blaustein et al., 2011). Los anfibios son un grupo susceptible a la degradación del ambiente por sus características morfológicas y fisiológicas como tamaño corporal relativamente pequeño, que influye en la relación superficie-volumen y por consiguiente en la susceptibilidad a la desecación y a la dependencia de la temperatura del medio para mantener su cuerpo en rangos de temperatura adecuados para su desempeño; y piel delgada y semipermeable que los hace más vulnerables a efectos negativos de diversos agentes químicos y cambios en el microclima (Vitt & Caldwell, 2014). Estas características hacen que los anfibios sean sensibles a cambios en las características del hábitat. Sin embargo, la mayoría de los hábitats en los que los anfibios ocurren están siendo transformados por actividades humanas a un ritmo acelerado. Tal es el caso de los bosques tropicales secos (BTS), reconocidos como uno de los hábitats más amenazados del mundo (Janzen, 1988; Dirzo, Young, Mooney y Ceballos, 2011). México cuenta con el 38% de la extensión total de los BTS en el Continente Americano, lo cual representa una extensión de 181,461 km². Sin embargo, solo el 27% de su cobertura original permanece intacta (Trejo & Dirzo, 2000; Portillo-Quintero & Sanchez-Azofeifa, 2010) y a pesar de su importancia biológica, se estima que al menos el 48% de la extensión de estos bosques se ha perdido debido al cambio de uso del suelo (Dirzo et al., 2011).

De acuerdo con varios reportes, la perturbación de los bosques altera la composición y estructura de las comunidades herpeofaunísticas debido a la modificación o desaparición de las condiciones ambientales y estructurales de los microhábitats presentes en bosques no perturbados (Urbina-Cardona & Londoño, 2003; Urbina-Cardona, 2008). La manera como las especies de anfibios responden a los disturbios del hábitat depende de manera importante de su habilidad de adaptación y de sus características poblacionales (Hunter, 1996). Los anfibios dependen de microhábitats que les provean las condiciones adecuadas para refugio, alimentación, reproducción, estivación y

escape de depredadores, entre otros aspectos (Urbina-Cardona & Reynoso, 2011, Urbina-Cardona, Reynoso & Dirzo, 2012). Sin embargo, la mayoría de las especies de anfibios han mostrado ser especialmente sensibles a cambios drásticos en sus microhábitats (Duellman & Trueb, 1994). Los rangos estrechos de tolerancia ecofisiológica de los anfibios, hace que estos sean abundantes en áreas con condiciones de microhábitat óptimas, pero cuando estas condiciones se ven modificadas aumenta su vulnerabilidad dependiendo de la sensibilidad de cada especie (Pizano & García, 2014; Urbina-Cardona et al., 2014). Diversos estudios han propuesto que el microhábitat de las especies se modifica tras el paso de alguna perturbación (Isaacs-Cubides & Urbina-Cardona, 2011; Cortés-Gómez, Castro- Herrera & Urbina-Cardona, 2013).

Un resultado de la perturbación de los BTS, es el establecimiento de bosques secundarios. Estos presentan una composición y estructura vegetal diferente a la del bosque primario, así como cambios estructurales importantes a lo largo del proceso de sucesión (Morales & Sarmiento, 2002). Por ejemplo, los bosques secundarios presentan diferencias significativas entre los estadios sucesionales en cuanto a la densidad de árboles, cobertura del dosel y la cobertura de hojarasca (Suazo-Ortuño et al., 2015). Estos cambios en los atributos del hábitat pueden tener un efecto importante en la abundancia y distribución de las especies, en particular en aquellas especies que tienen asociación estrecha con microhábitats particulares, como es el caso de los anfibios (Vitt, Ávila-Pires, Esposito, Sartorius & Zani, 2007). De esta manera, el microhábitat se puede considerar como un factor importante en la distribución de las especies o de sus diferentes estadios de desarrollo (e.g. crías, juveniles y adultos) ya que la mayoría dependen de alguna estructura específica del hábitat en el cual viven (MacFadden & Capen, 2002; Vitt et al., 2007; Bustos-Zagal, Manjarres & Franco, 2013). Por lo tanto, identificar las características del microhábitat que permitan la supervivencia de las especies una vez que los bosques son perturbados es esencial para realizar acciones de conservación tanto a nivel de especie como a nivel de comunidad. En el

presente estudio evaluamos cambios en el uso del microhábitat de dos especies sintópicas de ranas arborícolas *Agalychnis dacnicolor* y *Smilisca fodiens* a lo largo de un gradiente sucesional del BTS. Adicionalmente, evaluamos diferencias en el uso del microhábitat entre los estadios de desarrollo (crías, juveniles y adultos) y entre la estación del año (lluvias y estiaje). Nuestra hipótesis es que debido a que estas dos especies son generalistas del hábitat (Suazo-Ortuño et al., 2015) tendrán como estrategia el cambio en el uso del microhábitat en respuesta a la sucesión secundaria del BTS y la temporada climática. Asimismo, se prevé que los cambios en las variables ambientales y estructurales del hábitat influenciarán la presencia, condición (biomasa y talla) y temperatura de los individuos.

5.4 Metodología

5.4.1 Sitio de estudio: El área de estudio se ubica en la reserva de la biosfera Chamela-Cuixmala y sitios aledaños localizados en la costa de Jalisco, México (19°30'N - 105°03'W). La temperatura anual en la región es de 25.1°C y la precipitación promedio anual es de 788 mm. La vegetación predominante es el bosque tropical seco (BTS), con una altura del dosel que va desde los 5-10 m. La temporada de lluvias dura de julio a octubre y proporciona el 80 % de la precipitación anual (Lott & Atkinson, 2002). Las actividades humanas, particularmente desde 1960, han transformado el paisaje de la región en un mosaico complejo con distintas coberturas y usos del suelo, predominando los pastizales para uso de ganado y cultivos agrícolas, mezclado con arbustos y árboles aislado, lo que resta de la vegetación se compone de parches de bosque maduro y vegetación secundaria en diferentes etapas de sucesión. Las primeras etapas del proceso de sucesión son generalmente dominadas por hierbas y arbustos. Aproximadamente, 25-45 % del paisaje en la región corresponde a la vegetación en diferentes etapas de sucesión y 55-75 % a bosque maduro (Burgos & Mass, 2004).

5.4.2 Sistema de estudio: Los sitios de muestreo se ubicaron en tres regiones dentro de las parcelas que forman parte del proyecto “Manejo de bosques tropicales en la reserva de Chamela, Jalisco” (MABOTRO) (Fig. 1). Se seleccionaron 15 sitios de muestreo, los cuales se agruparon en cinco estadios sucesionales de vegetación de acuerdo con la edad de regeneración del bosque: pastizal, bosque inicial (5-6 años de abandono), bosque joven (8-10 años de abandono), bosque intermedio (15 a 17 años de abandono) y bosque maduro (sin evidente signo de disturbio humano) (Tabla 1). Se ubicaron tres sitios de muestreo para cada estadio sucesional y en cada sitio se ubicó una parcela permanente de 100x100 m, en la cual se llevó a cabo la búsqueda de individuos de *Smilisca fodiens* y *Agalychnis dacnicolor* y se evaluó el uso del microhábitat.

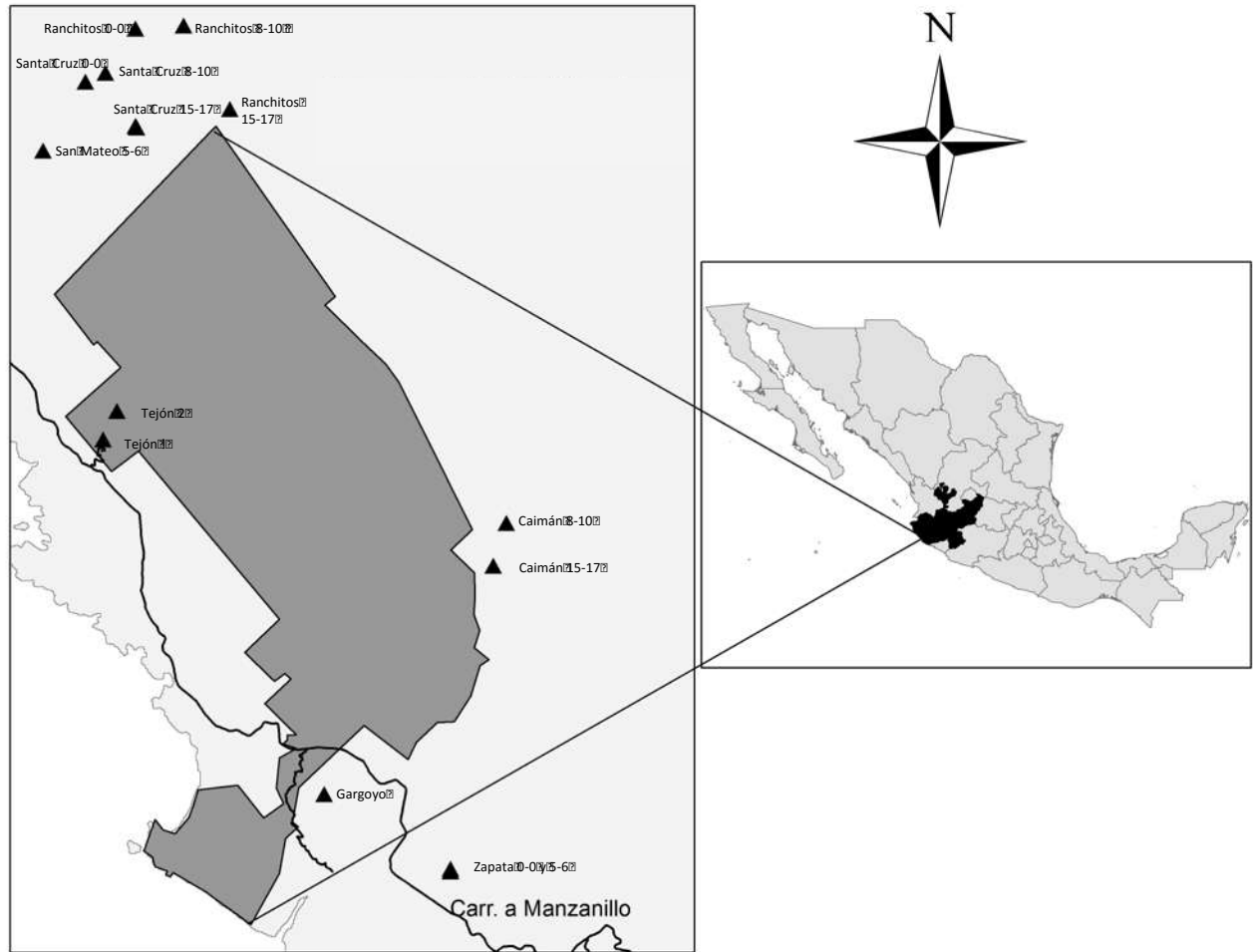


Fig. 1. Área de estudio. Ubicación de los 15 sitios de muestreo en la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixtlama, Jalisco, México y áreas aledañas.

5.4.3 Muestreo del microhábitat: Se realizaron 8 salidas al campo de abril de 2012 a septiembre de 2014. Cinco salidas se llevaron a cabo en los periodos de lluvias (julio-octubre) y tres en los periodos de estiaje (noviembre-junio). Los muestreos se realizaron durante la noche (21:00-04:00 hrs) por 5 personas. Para la búsqueda de los ejemplares se usó la técnica de Búsqueda por Detección Visual [Visual Encounter Surveys (Crump & Scott, 1994)]. Una vez localizado un ejemplar se procedió a su captura, registrando el sustrato donde se observó el

individuo por primera vez (ramas de arbustos, ramas de árboles, sobre pasto seco, herbáceas, rocas, ramas y troncos secos sobre el suelo), además de la temperatura y humedad relativa del sustrato. De cada ejemplar capturado se midió la longitud hocico-cloaca (LHC) con un vernier, el peso (gr) con pesolas de diferente gramaje y la temperatura cloacal (°C) con un termómetro de mercurio. Además, se midió la temperatura y la humedad del ambiente a 150 cm del suelo con una microestación climática marca Kestrel 4000. Se estableció una parcela de 1m² alrededor del sitio de observación de cada individuo y se midió el porcentaje de cobertura de rocas, hojarasca, herbáceas, arbustos, árboles, suelo desnudo, ramas secas y troncos caídos. Adicionalmente, si el individuo se encontraba perchando en un árbol se midió el diámetro a la altura del pecho (DAP) del árbol donde se encontraba el individuo, la altura del refugio o percha y la altura del árbol o arbusto.

5.4.4 Análisis de datos: Se evaluaron los cambios en la biomasa (peso en gramos), longitud hocico-cloaca (LHC) y temperatura corporal de los individuos de las dos especies entre estadios sucesionales y temporadas del año. Esto se realizó mediante un análisis de varianza multivariada basada en permutación (PERMANOVA). El análisis se basó en una matriz de similitud de Bray-Curtis, una prueba de Fisher con una suma de cuadrados secuencial tipo I y 9999 permutaciones. El diseño experimental tuvo cuatro factores: temporada (fijo) con dos niveles (lluvias y estiaje); salida al campo con 8 niveles anidado en temporada (aleatorio), estadio de sucesión (fijo) con cinco niveles (pastizal, bosque inicial, bosque joven, bosque intermedio y bosque maduro), y sitio con 3 niveles anidados en los estadios (aleatorio). Todos los análisis se realizaron con el factor región como covariable (con 3 niveles, región 1 Ranchitos-Santa Cruz, región 2 Bosques Maduro-Caimanes y Región 3 Zapata; Tabla 1), bajo el supuesto que la cercanía geográfica de los sitios de muestreo podría tener un efecto. Cuando se encontraron efectos en algún factor o sus interacciones, se realizó una comparación *a posteriori* por pares con el

estadístico *t*. Los análisis fueron realizados con el programa PRIMER v7 y PERMANOVA add on (Clarke & Gorley, 2015).

Tabla 1. Ubicación geográfica de los 15 sitios de muestreo representando diferentes estadios sucesionales del Bosque Tropical Seco de Chamela, Jalisco, México. Las regiones agrupan a los sitios cercanos entre sí.

Sitio de estudio	Acrónimos de los sitios de estudio	Estadios Sucesionales	Ubicación Geográfica		
			Lat N	Long W	Región
Ranchitos	R 0-0	Pastizal	19°36'51.12"	105°1'17.62"	1
Santa Cruz	SC 0-0	Pastizal	19°35'15.14"	105°02'5.05"	1
Zapata	Z 0-0	Pastizal	19°23'00"	104°56'54.4"	3
Santa Cruz	SC 5-6	Bosque inicial	19°35'13.62"	105°02'4.03"	1
Zapata	Z 5-6	Bosque inicial	19°23'2.8"	104°56'54.42"	3
San Mateo	SM 5-6	Bosque inicial	19°34'50.64"	105°03'36.37"	2
Ranchitos	R 8-10	Bosque joven	19°36'53.92"	105°01'17.45"	1
Caimán	C 8-10	Bosque joven	19°28'43.61"	104°55'59.69"	2
Santa Cruz	SC 8-10	Bosque joven	19°36'7.33"	105°02'34.54"	1
Ranchitos	R 15-17	Bosque intermedio	19°35'31.77"	105°00'32.24"	1
Santa Cruz	SC 15-17	Bosque intermedio	19°35'58.8"	105°02'54.5"	1
Caimán	C 15-17	Bosque intermedio	19°28'1.3"	104°56'12.42"	2
Gargoyo	G	Bosque maduro	19°24'16.4"	104°58'59.0"	2
Tejón 1	T1	Bosque maduro	19°30'05.9"	105°02'36.9"	2
Tejón 2	T2	Bosque maduro	19°30'34.1"	105°02'23.3"	2

Se realizó una ordenación estadística de los sitios a partir de distancias euclidianas en un análisis de componentes principales (PCA). Se determinó la correlación de Pearson de las variables con los ejes de ordenación. Previo al PCA, se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson para determinar la correlación lineal entre las variables ambientales y estructurales del microhábitat y así poder excluir las variables colineales (correlación superior al 80%) en análisis posteriores. Se usó un Análisis de Componentes Principales (PCA) para identificar la asociación de *A. dacnicolor* y *S. fodiens* con los atributos del hábitat en cada uno de los estadios sucesionales del BTS. Posteriormente se utilizó un análisis de correlación de Pearson para identificar los atributos del hábitat significativamente asociados con cada uno de los dos Componentes Principales. Para

estimar diferencias en el uso del microhábitat de ambas especies entre los diferentes estadios sucesionales, se realizó un ANOVA de una vía para cada uno de los componentes principales (CP) (con eigenvalor > 1) derivados del PCA antes mencionado, los cuales fueron utilizados como las nuevas variables dependientes. Este método se ha empleado para reducir la dimensionalidad de variables y comparar entre poblaciones (Zúñiga-Vega, Suárez-Rodríguez, Espinoza-Pérez & Johnson, 2011).

A partir de modelos lineales basados en distancias (rutina DistLM) se identificaron las variables ambientales que mejor explicaron los cambios en la biomasa, talla y temperatura corporal de los individuos de las dos especies. Los mejores modelos se evaluaron a partir del criterio de información de Akaike para muestras pequeñas (AICc) y el valor de r^2 ajustado. Los análisis fueron realizados con el programa PRIMER v7 y PERMANOVA add on (Clarke & Gorley, 2015). Para caracterizar el uso del microhábitat que utilizaron ambas especies en sus distintas etapas de desarrollo, en los diferentes estadios sucesionales se utilizó un análisis de coordenadas principales (PCoA), el cual está basado en una matriz de similitud de Bray-Curtis.

5.5 Resultados

5.5.1 Abundancia de las especies: En total se registraron 58 individuos de *Agalychnis dacnicolor* y 67 de *Smilisca fodiens* (Tabla 2). La rana verde *A. dacnicolor* no presentó diferencias en abundancia entre salidas al campo, sitios de muestreo, estadios sucesionales o temporada climática. Para *S. fodiens* la abundancia varió entre salidas, temporada climática y estadio sucesional ($F=2.319$; $p\text{-perm}=0.011$). Durante la temporada de estiaje la abundancia de *S. fodiens* fue mayor en el bosque intermedio ($t= 11,728$; $P(M)=0,042$), mientras que durante la época de lluvias fue mayor en el pastizal ($t= 26,091$; $P(M)=0,001$).

Tabla 2. Número de individuos muestreados de *Agalychnis dacnicolor* y *Smilisca fodiens* en cada uno de los estadios sucesionales por época del año en la región de Chamela, Jalisco, México.

Estadios Sucesionales	Época del año	<i>Agalychnis dacnicolor</i>	<i>Smilisca fodiens</i>
Pastizal	Estiaje	9	1
Pastizal	Lluvias	6	16
Bosque inicial	Estiaje	5	7
Bosque inicial	Lluvias	4	8
Bosque joven	Estiaje	6	5
Bosque joven	Lluvias	10	10
Bosque intermedio	Estiaje	0	8
Bosque intermedio	Lluvias	0	7
Bosque maduro	Estiaje	3	5
Bosque maduro	Lluvias	15	0
Total		58	67

5.5.2 Condición de las especies: No hubo diferencias significativas en la biomasa de *A. dacnicolor* entre estadios sucesionales ni entre temporadas climáticas, pero sí entre los sitios de muestreo ($F = 3.9377$; $p\text{-perm} = 0.0315$;). En cuanto a la LHC de *A. dacnicolor* esta varió significativamente entre las salidas al campo, estadios sucesionales y temporada climática ($F = 33.475$; $p\text{-perm} = 0.0001$); durante la temporada de estiaje la LHC no varió entre los estadios sucesionales; pero durante la temporada de lluvias la LHC fue diferente en el bosque joven en el cual se presentaron mayores tallas en la salida 4 respecto a la salida 6 ($t = 3.0267$; $p = 0.0286$) y 8 ($t = 5.1491$ y $p = 0,0383$). En contraste, la biomasa y LHC de *S. fodiens* no varió entre sitios, estadios sucesionales, temporada climática o salidas al campo (Tabla 3).

Tabla 3. Promedio, desviación estándar y rango de la biomasa, longitud hocico-cloaca (LHC) y temperatura corporal de *Agalychnis dacnicolor* y *Smilisca fodiens* en los diferentes estadios sucesionales del Bosque Tropical Seco de la región de Chamela, Jalisco México.

	Unidad de medida	<i>Pastizal</i>			<i>Bosque Inicial</i>			<i>Bosque Joven</i>			<i>Bosque Intermedio</i>			<i>Bosque Maduro</i>		
		Promedio	SD	Rango	Promedio	SD	Rango	Promedio	SD	Rango	Promedio	SD	Rango	Promedio	SD	Rango
<i>Agalychnis dacnicolor</i>																
Biomasa	gr	14.99	9.5	6.4-50	14.74	8.84	6.6-36	14.6	8.6	2-40.5				14.52	8.4	10.5-20.5
Longitud hocico-cloaca	mm	58.47	11.4	47-87	56.73	11.6	51-80	56.51	11.5	32-87				57.06	12.4	11-73
Temperatura corporal	°C	23.68	4	15-25	24.31	3.72	20-27	24.34	3.7	16-29				25.46	3	25-30
<i>Smilisca fodiens</i>																
Biomasa	gr	11.31	5.1	2-18.5	15.54	8.95	1.3-25	16.38	8.4	3.2-22	15.78	8.5	6-18.5	15.61	5.2	11.75-25.8
Longitud hocico-cloaca	mm	53.24	7.7	30-62	56.38	10.53	26-66	57.93	9	37-64	56.87	9.1	46-64	54.58	12.4	23-66
Temperatura corporal	°C	24.55	3.5	20-29	24.76	3.83	25-30	23.2	4.3	23-31	24.23	4.1	24-30	27.29	1.2	25-30

La temperatura corporal de *A. dacnicolor* varió entre estadios sucesionales ($F = 5.3991$; $p\text{-perm} = 0.0188$) y entre temporadas climáticas ($F = 3.6689$; $p\text{-perm} = 0.0215$). Los promedios de las temperaturas corporales fueron mayores en el bosque maduro, seguido del bosque inicial, pastizal y bosque joven. Durante la temporada de lluvias las temperaturas corporales fueron similares entre los estadios sucesionales, mientras que en la temporada de estiaje las pruebas *a posteriori* indicaron diferencias significativas entre el bosque inicial y el bosque joven ($t = 3.3653$; $p\text{-perm} = 0.001$). Adicionalmente, se observó que la variabilidad en la temperatura corporal (expresada por las distancias euclidianas) en la temporada de estiaje, se redujo al incrementar la edad del estadio sucesional [pastizales (4.4444); bosque temprano (2.4); bosque joven (1.9333); bosque maduro (1.3333)]. A pesar de que no hubo diferencias en la época de lluvias en las temperaturas corporales la variabilidad fue menor en bosques maduros e intermedio [bosque joven (4.1333), pastizales (3.2), bosque inicial (3.1667); bosque maduro (1.1333), bosque intermedio (0)].

La temperatura corporal de *S. fodiens* varió significativamente entre temporadas climáticas y estadios sucesionales ($F = 55.045$; $p\text{-perm} = 0.0294$). Durante la temporada de lluvias se observaron diferencias significativas entre el pastizal y el bosque intermedio ($t = 3.0545$; P (MC) = 0.0073). También durante esta temporada se registró una reducción en la variación de la temperatura corporal de *S. fodiens* expresada por las distancias euclidianas entre los estadios sucesionales, siendo mayor en el pastizal (0.27331), seguido por el bosque joven (0.1733), el bosque intermedio (0.14054) y el bosque inicial (0.13852). Durante la temporada de estiaje la temperatura corporal de *S. fodiens* varió significativamente entre el pastizal y el bosque inicial ($t = 4.3186$; P (MC) = 0.0182), pastizal y bosque intermedio ($t = 3.2541$; P (MC) = 0.0155), bosque inicial y bosque intermedio ($t = 4.0084$; $p\text{-perm} = 0.0176$) y bosque intermedio y bosque joven ($t = 19.223$; P (MC) = 0.0329). En esta

temporada la variación en la temperatura corporal de *S. fodiens* expresada por las distancias euclidianas fue menor en pastizales (0) y los bosques intermedios (0.087275), y se incrementó en el bosque inicial (0.16609), bosque maduro (0.21032) y el bosque joven (0.2253).

5.5.3 Hábitat de las especies: De las 15 variables ambientales y estructurales que fueron medidas solo la relación entre la temperatura del sustrato y la temperatura ambiental, así como la relación de la humedad del sustrato y la humedad ambiental presentaron colinearidad ($r^2 > 83$ %; Material suplementario 1 y 2), por lo que para el PCA se eliminaron las variables de temperatura y humedad ambiental. Los dos primeros componentes principales (PC) explicaron el 50.7 % del total de la variación ambiental entre los sitios de muestreo. El PC1 explicó el 32.5 %, siendo las variables de mayor peso la temperatura del sustrato, altura del refugio, altura del árbol o arbusto y el porcentaje de árboles. Por su parte, el PC2 explicó el 18.2 % de la variación ambiental, siendo las variables de mayor peso el porcentaje de arbusto, suelo desnudo, herbáceas, ramas secas y troncos caídos (Fig. 2).

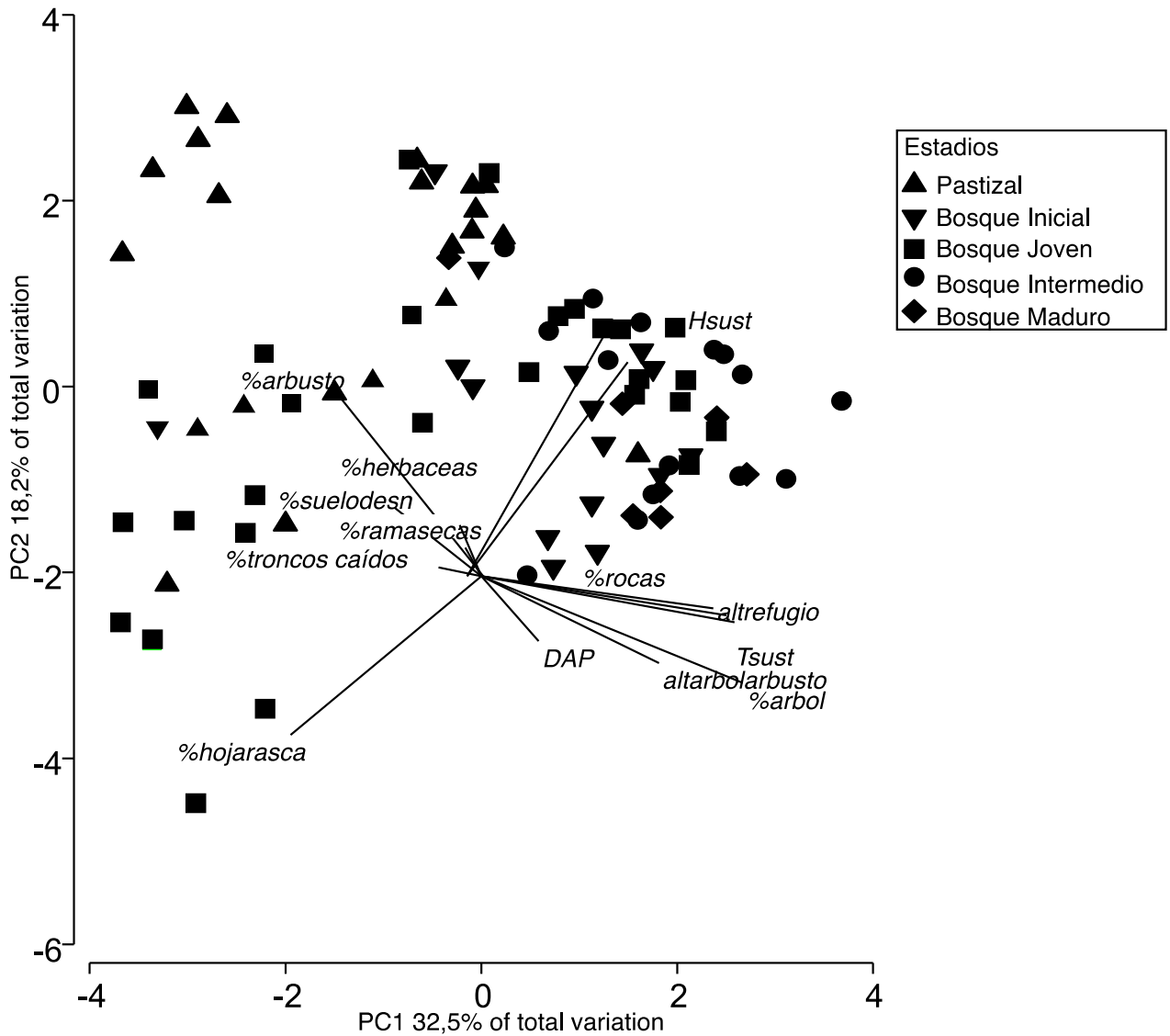


Fig. 2. Biplot del PCA, representando las distintas variables ambientales en relación a los estadios sucesionales del bosque tropical seco de la región de Chamela, Jalisco, México.

Los primeros 6 PC presentaron un eigenvalor mayor de uno. Los ANOVAs de una vía indicaron diferencias significativas para el PC1 entre estadios ($F_4 = 12.87$, $p < 0.001$) y entre especies ($F_1 = 14.99$, $p < 0.001$), siendo las variables de mayor peso la altura del

refugio (0.20) y el porcentaje de árbol (0.23); para el PC3 entre estadios ($F_4 = 5.79$, $p < 0.001$), siendo las variables de mayor peso la humedad del sustrato (0,20) y el DAP (0.20); para el PC4 hubo diferencias entre estadios ($F_4 = 3.10$, $p = 0.01$), siendo la variable de mayor peso el porcentaje de pasto (0.33); por último encontramos diferencias para el PC5 ($F_4 = 3.12$, $p < 0.0001$), siendo la variable de mayor peso el porcentaje de herbáceas (0.50). Las pruebas *a posteriori* indicaron que el microhábitat utilizado por ambas especies difiere en el bosque joven en el PC1 ($p < 0.001$) y en el PC3 ($p = 0.011$); en *A. dacnicolor* los estadios sucesionales difirieron en el PC1 entre el bosque joven y el bosque maduro ($p = 0.041$) y entre el pastizal y el bosque maduro ($p = 0.004$), en el PC3 difirieron el bosque joven y el pastizal ($p = 0.003$), en el PC4 difirieron el bosque joven y el bosque inicial ($p = 0.003$) y en el PC5 difirieron el bosque joven y el pastizal ($p = 0.003$); en *S. fodiens* los estadios sucesionales difirieron en el PC1 el pastizal con el bosque inicial ($p = 0.005$), bosque joven ($p = 0.007$), bosque intermedio ($p < 0.001$) y bosque maduro ($p = 0.001$).

En la asociación de *A. dacnicolor* y *S. fodiens* con los atributos del hábitat en cada uno de los estadios sucesionales, el PCA mostró que en el pastizal el PC1 explica el 21.1 % de la variación, mientras que el PC2 el 18.8 % de la variación; las variables que separaron a *A. dacnicolor* y *S. fodiens* en este estadio fueron la altura del árbol o arbusto, el porcentaje de herbáceas y el número de estratos (Fig. 3a). En el bosque inicial el PC1 explicó el 27.7 % de la variación total y el PC2 explicó el 24.4 %; las variables que significativamente separaron a las especies fueron la temperatura del sustrato, humedad del sustrato, porcentaje de ramas secas, porcentaje de herbáceas, porcentaje de árboles y la altura del refugio (Fig. 3b). En el bosque joven el PC1 explicó el 29.6 % de la variación, mientras que el PC2 explicó el 17.1 %; las variables que separaron a las especies fueron la temperatura del sustrato, humedad del sustrato, porcentaje de árboles, porcentaje de hojarasca, el

diámetro a la altura del pecho y el porcentaje de troncos caídos (Fig. 3c). En el bosque intermedio el PC1 explicó el 37.6 % de la variación y el PC2 explicó el 18.9 %; las variables que separaron a las especies en este estadio fueron el diámetro a la altura del pecho, porcentaje de hojarasca, el porcentaje de troncos caídos, porcentaje de árboles, porcentaje de herbáceas y porcentaje de ramas secas (Fig. 3d). Para el bosque maduro el PC1 explicó el 27.8 % de la variación y el PC2 el 23.5 %; para este estadio las variables de mayor peso que separaron a ambas especies fueron la temperatura del sustrato, diámetro a la altura del pecho, porcentaje de hojarasca, porcentaje de troncos caídos, porcentaje de árboles, porcentaje de herbáceas y porcentaje de ramas secas (Fig. 3e).

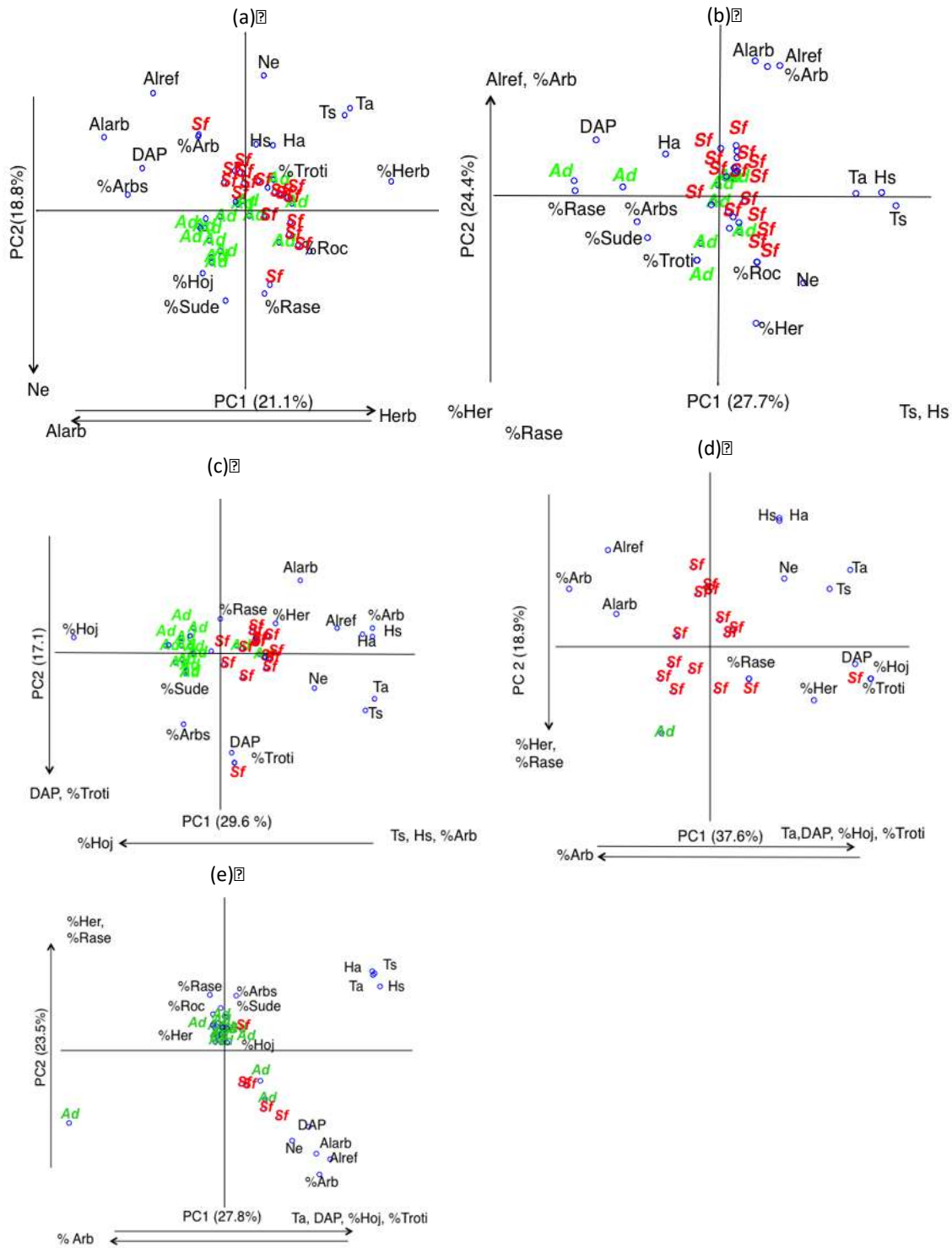


Fig. 3 PCA de la distribución en uso del microhábitat de *Agalychnis dacnicolor* y *Smilisca fodiens* en los diferentes estadios sucesionales. a) Pastizales, b) Bosque Temprano, c) Bosque Joven, d) Bosque Intermedio y e) Bosque Maduro.

5.5.4 Relación entre condición y las variables ambientales: Para *A. dacnicolor* la biomasa estuvo mejor explicada por las herbáceas (R^2 ajustada = 0.20 %), seguido por la interacción de las herbáceas con los troncos caídos (R^2 ajustada = 0.30 %) y por la interacción entre la hojarasca, herbáceas y troncos caídos (R^2 ajustada = 0.35 %). Mientras que para la LHC la mejor variable que la explicó fue la altura del árbol o arbusto (R^2 ajustada = 0.42 %), seguido por la interacción de DAP con la altura del árbol o arbusto (R^2 ajustada = 0.52 %) y por la interacción entre DAP, la altura del árbol o arbusto y herbáceas (R^2 ajustada = 0.60 %). En cuanto a temperatura corporal la mejor variable que la explicó fue la temperatura del sustrato (R^2 ajustada = 0.67 %), seguido por la interacción de la temperatura del sustrato con herbáceas (R^2 ajustada = 0.74 %) y por la interacción entre temperatura del sustrato, la hojarasca y el arbusto (R^2 ajustada = 0.80 %) (Tabla 4).

Las variables que mejor explicaron la biomasa de *S. fodiens* fueron las ramas secas (R^2 ajustada = 0.11 %), seguida por la interacción de ramas secas con la humedad del sustrato (R^2 ajustada = 0.15 %) y por la interacción entre humedad del sustrato, hojarasca y ramas secas (R^2 ajustada = 0.17 %) (Tabla 4). La variable que mejor explicó la LHC de esta especie también fueron las ramas secas (R^2 ajustada = 0.03 %), seguida por la interacción de la altura del refugio con las ramas secas (R^2 ajustada = 0.06 %) y por la interacción entre la altura del refugio, rocas y ramas secas (R^2 ajustada = 0.06 %). La temperatura corporal de esta especie fue explicada por la temperatura del sustrato (R^2 ajustada = 0.12 %), seguida por la interacción de la temperatura del sustrato con las herbáceas (R^2 ajustada = 0.20 %), y por la interacción entre la temperatura del sustrato, las herbáceas y ramas secas (R^2 ajustada = 0.21 %) (Tabla 4).

Tabla 4. Modelos lineales basados en distancias evaluados a partir del criterio de información de Akaike clasificados por el número de variable, explicando la biomasa, LHC y la temperatura corporal por la variable utilizada. *Agalychnis dacnicolor*: (1) temperatura del sustrato, (2) humedad ambiental, (3) DAP, (4) altura del refugio, (5) altura del árbol o arbusto, (6) rocas, (7) hojarasca, (8) herbácea, (9) arbusto, (10) suelo desnudo, (11) ramas secas, (12) troncos caídos. *Smilisca fodiens*: (1) temperatura ambiental, (2) temperatura del sustrato, (3) humedad ambiental, (4) humedad del sustrato, (5) DAP, (6) altura del refugio, (7) altura del árbol o arbusto, (8) rocas, (9) hojarasca, (10) herbácea, (11) arbusto, (12) árbol, (13) suelo desnudo, (14) ramas secas, (15) troncos caídos.

	<i>AICc</i>	<i>R2 Ajustada</i>	<i>RSS</i>	<i>Numero de variables</i>	<i>Variables seleccionadas</i>
<i>Agalychnis dacnicolor</i>					
<i>Biomasa</i>					
161.09	0.20259	4853.4	1	8	
158.06	0.30797	4066.8	2	8;12	
157.61	0.36067	3679.5	3	7;8;12	
154.1	0.048342	2710.5	5	1-3;8;11	
155.24	0.49927	2522.2	6	1-3;7;8;11	
155.24	0.49927	2533.3	7	1-3;6-8;11	
175.51	0.4107	2349.9	12	Todas	
<i>LHC</i>					
118.76	0.42177	1238.9	1	5	
114.03	0.52507	982.5	2	3;5	
110.06	0.6021	793.74	3	3;5;8	
110.03	0.69334	521.11	7	1-3;5;10-12	
110.03	0.69334	521.11	8	1-3;5;6;10-12	
125.84	0,66276	473.41	12	Todas	
<i>Temperatura corporal</i>					
-81.774	0.67322	1.9218	1	1	
-87.946	0.74381	1.4547	2	1;8	
-95.184	0.80688	1.0574	3	1;7;9	
-96.362	0.84468	0.7874	5	1;2;7-9	
-95.597	0.85488	0.6024	6	1;2;4-9;11	
-95.597	0.86499	0.6024	8	1;2;4;5;7-9;11	
-99.318	0.85929	0.6849	9	1;2;4;7;9;11	
-82.43	0.85151	0.5721	12	Todas	
<i>Smilisca fodiens</i>					
<i>Biomasa</i>					
243.44	0.11004	5172.6	1	14	
242.15	0.15166	4832.1	2	4;14	
241.79	0.17796	4586.6	3	4;9;14	
241.1	0.20978	4317.3	4	4;5;9-14	
241.1	0.20978	4317.3	5	4;5;8;9;14	
243.19	0.22319	4063.5	6	4;5;9;10;13;14	

	243.19	0.22319	4063.5	7	4;5;8-10;13;14
	244.91	0.22193	3979.6	8	3-5;7-9;13;14
	262.45	0.14085	4796	15	Todas
<i>LHC</i>					
	166.79	0.035447	1161.9	1	14
	165.49	0.06292	1106.3	2	6;14
	165.49	0.06292	1106.3	3	6;8;14
	167.23	0.054548	1093.4	4	3;6;8-14
	168.6	0.054375	1070.8	5	1;2;6;8;14
	193.12	0.092883	1000.6	15	Todas
<i>Temperatura corporal</i>					
	-171.93	0.12685	1.7565	1	2
	-175.77	0.20761	1.5622	2	2;10
	-175.21	0.2185	1.5093	3	2;10;14
	-174.26	0.22461	1.4663	4	2;6;10;14
	-174.17	0.24449	1.3983	5	2;6;7;10;14
	-156.95	0.15758	1.266	12	Todas

5.5.5 Uso del microhábitat entre estadios de desarrollo: Se registró diferencia en el uso del microhábitat de los estadios de desarrollo (cría, juvenil y adulto) de *A. dacnicolor* entre los diferentes estadios sucesionales ($F = 2.3472$; $p\text{-perm} = 0.0486$), además de la interacción de estadio sucesional-estadio de desarrollo la cual fue significativa ($F = 2.3337$; $p\text{-perm} = 0.0067$) y la interacción temporada climática-estadio de desarrollo ($F = 3.8101$; $p\text{-perm} = 0.0085$). La prueba *a posteriori* indicó diferencias significativas entre la temporada climática en los machos ($t = 3.0581$; $p\text{-perm} = 0.0024$), mientras que para los demás estadios de desarrollo no hubo diferencias significativas entre temporadas climáticas. En cuanto a los estadios sucesionales, en hembras se registraron interacciones significativas entre el bosque inicial y el bosque joven ($t = 2.1263$; $p\text{-perm} = 0.0414$) y entre el bosque maduro y el bosque joven ($t = 2.1263$; $p\text{-perm} = 0.0462$). Para machos, se registraron interacciones significativas entre el bosque inicial y el bosque maduro ($t = 2.2924$; $p\text{-perm} = 0.0291$), entre el bosque intermedio y el bosque maduro ($t = 2.8508$; $p\text{-perm} = 0.0055$),

entre el bosque maduro y el pastizal ($t = 2.8508$; $p\text{-perm} = 0.0069$) y entre el bosque maduro y el bosque joven ($t = 2.1607$; $p\text{-perm} = 0.0376$). En juveniles y crías no hubo diferencia significativa en sus interacciones.

El PCoA para los estadios de desarrollo y los estadios sucesionales mostró que los machos de *A. dacnicolor* están mayormente asociados a los bosques maduros, mientras que los demás estadios de desarrollo, es decir, hembras, crías y juveniles, están mayormente asociados a los estadios de pastizal y bosque joven (Fig. 4a). En *S. fodiens* los machos estuvieron mayormente asociados al bosque intermedio, bosque joven y bosque inicial; mientras que las hembras estuvieron asociadas al bosque joven y bosque inicial; los juveniles estuvieron mayormente asociados al bosque maduro, bosque joven y pastizal; y las crías al bosque joven (Fig. 4b).

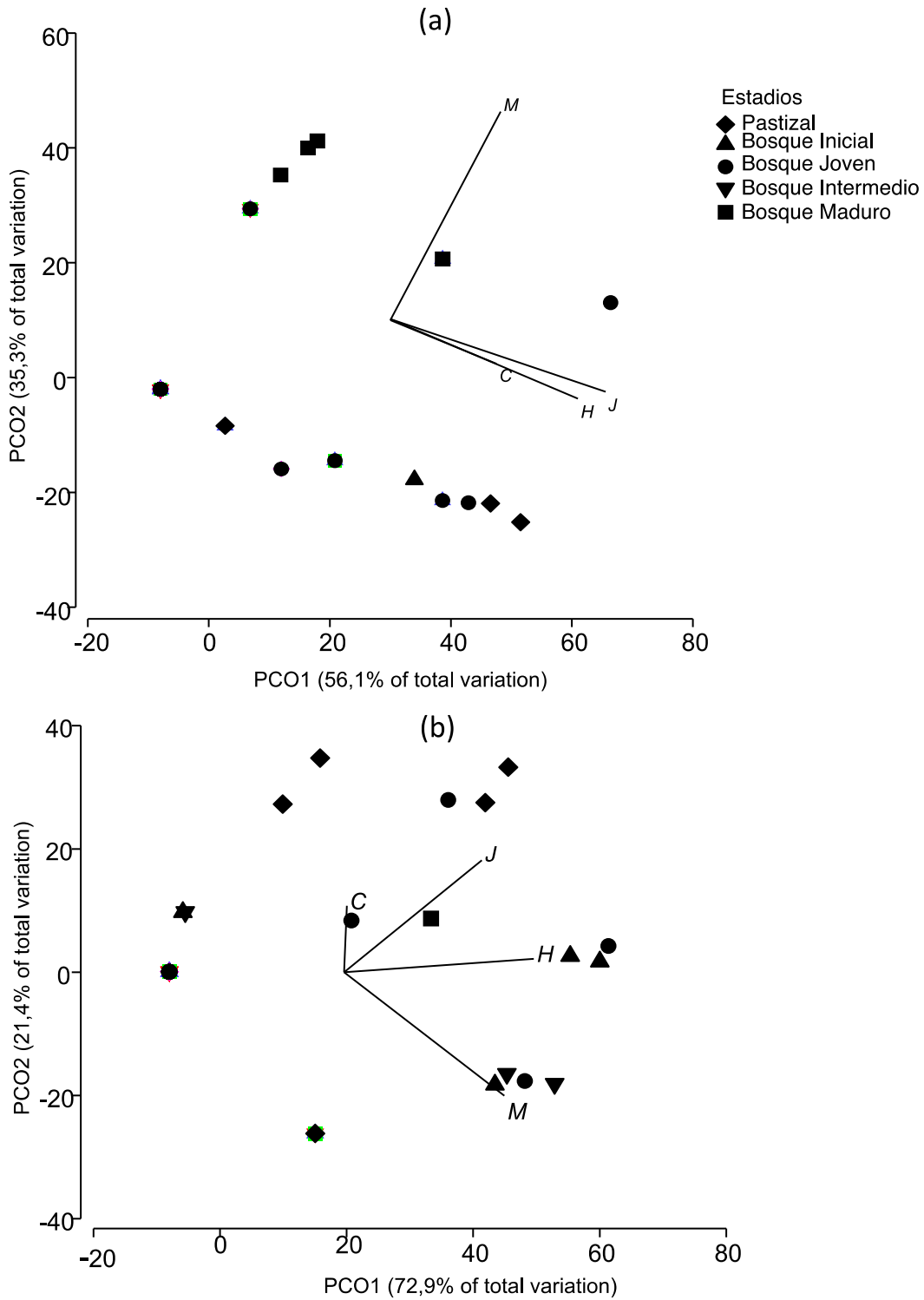


Fig. 4. PCoA que muestra la distribución de los diferentes estadios de desarrollo de (a) *A. dacnicolor* y (b) *Smilisca fodiens* en relación a los estadios sucesionales. M= machos, H= hembras, J=juveniles y C= crías.

5.6 Discusión

La rana verde *A. dacnicolor* no presentó diferencias significativas en su abundancia entre estadios sucesionales ni entre temporadas climáticas, mientras que la abundancia de la rana *S. fodiens* sí varió significativamente entre estadios sucesionales y entre temporadas climáticas. Aunque ambas especies se registraron en los bosques secundarios y en los bosques maduros, *A. dacnicolor* tuvo preferencia por el bosque maduro mientras que *S. fodiens* prefirió los lugares perturbados, y aunque se ha reportado que ambas especies son generalistas de hábitat y que poseen rasgos morfo-fisiológicos que les permiten vivir en un amplio rango de condiciones ambientales (Suazo-Ortuño et al. 2015), nuestros resultados muestran que la rana *S. fodiens* presenta mayor plasticidad ecológica que *A. dacnicolor*. En relación con la abundancia, los hábitos de ambas especies permiten explicar la mayor abundancia encontrada en la temporada de lluvias en contraste con la temporada de estiaje, ya que su periodo de reproducción ocurre en los meses lluviosos y por lo tanto son más activos y su detectabilidad aumenta (julio-octubre; Lott & Atkinson, 2002). Por otro lado se ha reportado que varias especies de anfibios presentan mayores abundancias en bosques fragmentados en respuesta al mayor número de cuerpos de agua (generalmente artificiales) y a la menor distancia entre ellos, que los encontrados en el bosque continuo (Joly, Miaud, Lehmann & Grolet, 2001). En cuanto a la biomasa, ni *A. dacnicolor* ni *S. fodiens* presentaron diferencias entre estadios sucesionales ni entre temporadas climáticas. En relación con la LHC, *A. dacnicolor* presentó mayores tallas durante la temporada de lluvia que durante la temporada de estiaje. Se ha reportado que tanto el tipo de hábitat como la temporada climática influyen en el peso y LHC de algunas especies de ranas arborícolas del género *Phyllomedusa* (Neckel-Oliveira & Gascon, 2006). Uno de los factores que puede explicar las diferencias encontradas en la talla de *A. dacnicolor* es la disponibilidad de

presas, ya que la estacionalidad que presenta el sitio de estudio altera la disponibilidad de alimento a lo largo del año (Bradford & Garcia-Aguayo, 1992). Se conoce que durante la época de lluvias varias especies de anfibios consumen un mayor volumen de presas en contraste con la temporada de estiaje, y en consecuencia incrementan su talla y peso (Cuevas y Martori, 2007; Martínez-Coronel y Pérez-Gutiérrez, 2011; Del Río-García, Serrano-Cardozo & Ramírez-Pinilla, 2014). Probablemente el hecho de que *S. fodiens* no haya presentado diferencias en biomasa y LHC entre estadios sucesionales y temporada climática se deba a que esta rana es una especie que aún y cuando tiene preferencia por el orden Lepidóptera y la familia Termitidae tiene la capacidad de cambiar su dieta a lo largo de la sucesión secundaria del bosque (Meza-Santiago, 2014), lo que le permitiría consumir diversas presas y alcanzar las mismas tallas en los diferentes estadios sucesionales del BTS. La temperatura corporal tanto de *A. dacnicolor* como de *S. fodiens* varió entre estadios sucesionales y temporadas climáticas, estas diferencias podrían estar asociadas en mayor medida a la estacionalidad del sitio y a las diferencias en la complejidad estructural de los diferentes estadios sucesionales (Suazo-Ortuño et al., 2015). Aún y cuando la temperatura corporal de las dos especies varió en respuesta a la sucesión secundaria del bosque y a la temporada climática, cada especie presentó una respuesta diferente. En el caso de *A. dacnicolor*, la temperatura promedio de los individuos fue significativamente mayor en el bosque maduro que en el resto de los estadios sucesionales, quizá esto se deba a que en el bosque maduro la mayor complejidad estructural del bosque provoca que exista una menor circulación de aire (Promis, Caldentey & Ibarra, 2010), lo que podría favorecer el incremento de temperaturas. En la época de lluvias por el contrario, no se encontraron diferencias entre los estadios sucesionales, quizá debido a que el follaje de la vegetación limita la circulación del aire. Por otro lado, es importante destacar que la variabilidad de la

temperatura corporal entre los individuos de *A. dacnicolor* se redujo al incrementar el estadio de sucesión durante la temporada de estiaje y en el caso de *S. fodiens* la variación en la temperatura corporal fue menor en el pastizal y el bosque intermedio que en el resto de los estadios sucesionales. Así, el efecto que tienen los estadios sucesionales del bosque tropical seco y la interacción con las estaciones climáticas en la temperatura corporal de los individuos de ambas especies puede tener diferentes implicaciones fisiológicas dependiendo del estadio de sucesión, ya que en organismos ectotérmicos como lo son ambas ranas, la temperatura puede afectar el comportamiento y los procesos metabólicos, influyendo a su vez el desarrollo de los individuos y su distribución en los diferentes ambientes (Toft, 1985; Webb & Shine 1998). La variación encontrada en las temperaturas corporales en ambas especies aunado a los resultados del PCoA sugiere que estas especies están siendo afectadas diferencialmente por las condiciones del hábitat, así como por la estructura de la vegetación presente en los diferentes estadios sucesionales del BTS. La rana *S. fodiens* presenta una temperatura mas constante entre individuos en los pastizales, mientras que *A. dacnicolor* en los bosques maduros.

La variación ambiental y estructural en los diferentes estadios sucesionales obtenida por el análisis de componentes principales (PCA) separó al bosque joven, bosque intermedio y bosque maduro del resto de los estadios sucesionales en función del incremento en la temperatura del sustrato, así como del incremento en la altura del refugio, altura del árbol o arbusto y del porcentaje de árboles, características estructurales que se incrementan conforme los años de regeneración del bosque. De acuerdo con Cortés-Gómez et al. (2013) es necesario una alta densidad de plantas leñosas (> 231 individuos por 500 m^2) para poder preservar una alta composición de especies de anfibios en bosques maduros, además de que estas características proveen a las diversas especies de anfibios de condiciones óptimas en

sus microhábitats para perchar, alimentarse, aparearse y anidar (Hilje & Aide, 2012). Por otro lado, los bosques jóvenes y pastizales se separaron en función del incremento en el porcentaje de arbustos, suelo desnudo, herbáceas, ramas secas y troncos caídos, características propias de bosques con menores años de regeneración. Estas características también son importantes ya que incrementan la complejidad del hábitat produciendo una mayor gama de microhábitats con potencial de albergar una gran riqueza de anfibios (Rittenhouse, Harper, Rehard & Semlitsch, 2008; Todd et al., 2008). Las variables ambientales y estructurales del hábitat que influenciaron la presencia de ambas especies dentro de los diferentes estadios sucesionales (temperatura del sustrato, altura del árbol o arbusto y los porcentajes de hojarasca, herbáceas, arbustos, árboles y suelo desnudo) concuerdan con lo observado por Urbina- Cardona y Reynoso (2011) y Hillers, Veith & Rödel (2008), quienes detectaron a la altura sobre el suelo, humedad relativa, temperatura y la pendiente como las variables que afectan a una mayor cantidad de especies de anfibios en su distribución. Las variables que mejor explicaron la biomasa, la LHC y la temperatura corporal de *S. fodiens* fueron las ramas secas y la temperatura del sustrato y en *A. dacnicolor* la biomasa estuvo mejor explicada por las herbáceas, la LHC por la altura del árbol o arbusto y la temperatura corporal por la temperatura del sustrato. Así, los diferentes elementos del microhábitat pueden influir fuertemente sobre los individuos, ya que por ejemplo, una capa gruesa de hojarasca puede preservar eficazmente la humedad en sitios fragmentados, amortiguando así las condiciones más secas y calientes (Urbina-Cardona, Olivares-Pérez & Reynoso, 2006; Harper et al., 2005). Sin embargo, las condiciones de los microhábitats de los anfibios pueden modificarse dependiendo de las condiciones climáticas, la orientación del borde y tamaño de los parches, lo cual influencia fuertemente la abundancia de los anfibios (Urbina-Cardona et al., 2006; Urbina-Cardona et al. 2012).

Los resultados de los PCA's y de los ANOVA's muestran que *A. dacnicolor* y *S. fodiens* utilizan de forma diferencial las variables ambientales y estructurales del microhábitat conforme los estadios sucesionales aumentan en edad. La asociación de las especies con los atributos del hábitat sugiere que cada una de ellas está sujeta a requerimientos específicos en cada estadio sucesional. De acuerdo con Menin, Rossa-Feres & Giaretta (2005) la posición y tipo de sustratos utilizados por dos hylidos sintópicos (*Hyla nana* y *Hyla sanborni*) depende de la vegetación disponible en el hábitat, lo cual a su vez puede cambiar las dinámicas de la repartición de recursos entre especies que coexisten, en el presente estudio también registramos diferencias en el microhábitat utilizado entre ambas especies sintópicas, siendo las variables que separaron a ambas especies la altura del refugio y el porcentaje de árboles en los diferentes estadios sucesionales.

A. dacnicolor tiende a usar estos elementos de manera diferenciada en el bosque joven con respecto a los demás estadios sucesionales, según Hilje & Aide (2012) los bosques jóvenes proporcionan microhábitats adecuados para los anfibios ya que cuentan con un dosel cerrado, una alta humedad, y una capa profunda de hojarasca y abundantes artrópodos, lo que les provee de condiciones adecuadas para su persistencia. *S. fodiens* también presentó diferencias en el uso del microhábitat en todos los estadios sucesionales, sin embargo, esta solo estuvo dada por diferencias en la altura del refugio y por el porcentaje de árboles que está utiliza a lo largo de la sucesión.

A pesar de que conforme avanza la sucesión hay una mayor disponibilidad de hábitats para elegir, se pudo observar que *A. dacnicolor* mantiene una preferencia por los estratos más bajos de la vegetación a lo largo de la sucesión, manteniendo un promedio de la altura de su refugio, así, nuestros resultados sugieren que a *A. dacnicolor* es una especie especialista del microhábitat, aun y cuando se le ha reportado como especie generalista de hábitat al

encontrarse en todos los estadios sucesionales del BTS (Suazo-Ortuño et al. 2015). En este sentido, nuestros resultados destacan que aún y cuando las especies pueden ser consideradas generalistas de hábitat, algunas presentan especialización mientras que otras presentan mayor plasticidad en el uso del microhábitat. En este sentido, *S. fodiens* quien también es considerada una especie generalista (Suazo-Ortuño et al. 2015), en este estudio mostró una amplia plasticidad en el uso del microhábitat al cambiar sus requerimientos a lo largo de la sucesión secundaria del bosque, en particular modificó el uso en la altura del refugio a lo largo de la sucesión secundaria. Los resultado de *A. dacnicolor* concuerdan con lo observado por Ribeiro de Oliveira & Cabral-Eterovick (2010) quienes sugieren que la distribución espacial en anuros sintópicos está más influenciada por las preferencias específicas de las especies que por las oportunidades que pueden tener de migrar hacia nuevos microhábitats, sin embargo, *S. fodiens* sí migra a nuevos microhábitats por lo que presenta plasticidad en el uso del microhábitat, también sugerida por dichos autores y la cual es una determinante importante en la distribución espacial de los anuros.

Aunque la relación entre el microhábitat y el estadio de desarrollo en anuros ha recibido poca atención, el sexo además de afectar en diversos aspectos como la dieta y la competencia, también puede influir en el uso del espacio (Vitt, 2000). En *A. dacnicolor* se observó que los machos estuvieron más asociados a bosques maduros, mientras que hembras, crías y juveniles estuvieron más asociados al pastizal y el bosque joven. Esta distinción puede resultar de los diferentes requerimientos térmicos en respuesta de las diferencias del tamaño corporal, ya que esta especie presenta dimorfismo sexual, en el cual las hembras son de tamaño mayor que los machos (Duellman, 2001). Mientras más grande es un individuo, el radio de superficie/volumen se reduce, conduciendo a tasas menores de desecación (Wygoda, 1988). Así, las hembras de *A. dacnicolor* que son de mayor tamaño

podrían tener tasas menores de evaporación permitiéndoles habitar en sitios más abiertos en comparación con los machos, quienes al tener menor talla y mayor tasa de evaporación ocurren con mayor frecuencia en el bosque maduro donde encuentran mayor cobertura herbácea como arbustos y árboles (Soto-Sandoval, 2013). Aunado a esto, la presencia de charcos y reservorios de agua hechos por el hombre en el paisaje, podrían influir en la presencia de hembras, juveniles y crías, ya que favorecen los sitios para ovoposición y reproducción (Suazo-Ortuño, Alvarado-Díaz & Martínez-Ramos, 2011) así como de regulación de temperatura. Estos resultados pueden fortalecer lo sugerido por Urbina-Cardona et al. 2012, 2006, quien indica que el uso del espacio puede cambiar en términos de las necesidades térmicas de los individuos conforme estos van avanzando en sus etapas reproductivas, esto se evidencia en la segregación que han tenido los diferentes estadios de desarrollo de *S. fodiens* en este estudio.

5.7 Importancia biológica

Los requerimientos del microhábitat para la mayoría de las especies de anfibios son virtualmente desconocidas lo que limita implementar estrategias encaminadas a su conservación en paisajes antropizados (Shoo et al. 2011). Nuestro estudio aporta información relevante sobre el microhábitat utilizado en respuesta a la sucesión secundaria del bosque tropical seco de dos especies simtópicas. Aunque ambas especies ha sido catalogadas como especies generalistas por su permanencia en los sitios antropizados (Ramírez-Bautista, 1994; Suazo-Ortuño et al., 2015), la rana verde *A. dacnicolor* resultó ser una especie con mayor especialización en el uso del microhábitat, mientras que *S. fodiens* resultó ser una especie con mayor plasticidad ecológica en el uso del microhábitat. Estas diferencias en la respuesta de las especies a la perturbación del hábitat podrían ayudar a

explicar porque algunas especies de anfibios son más exitosas en los ambientes antropizados que otras. Por otro lado, también refuerzan la idea que los paisajes con bosques secundarios en distintas etapas de sucesión pueden proveer microhábitas adecuados para la permanencia de las especies.

5.8 Literatura citada

- Blaustein, R. A., Han A. B., Relyea, R. A., Johnson, T.J. P., Buck, C. J., Gervasi, S. S. & Kats, B. L. (2011). The complexity of amphibian population declines: understanding the role of cofactor in driving amphibian losses. *Annals of the New York Academy of Science*, 11223 (1), 108-119.
- Bradford, C., & Garcia-Aguayo, A. (1992). Seasonality, predation, and the behaviour of a tropical mainland anole. *Journal of Animal Ecology*, 61, 717-733.
- Burgos, A. & Mass, J. M. (2004). Vegetation change associated with land-use in tropical dry forest areas of Western Mexico. *Agriculture, ecosystems & environment*, 104, 475-481.
- Bustos-Zagal, M. G., Manjarrez, J. & Franco. C. R. (2013). Uso de microhábitat y termorregulación en *Sceloporus horridus horridus* (Wiegman 1939) (Sauria: Phrynosomatidae), *Acta Zoológica Mexicana*, 29 (1), 153-163.
- Clarke, K. R., & Gorley, R. N. (2015). PRIMER v5, v6 & v7: *User manual/tutorial*, PRIMER-E, Plymouth UK, 91,192-296.
- Cortés-Gómez, M. A, Castro-Herrera, F. & Urbina-Cardona, J. N. (2013). Small changes in vegetation structure create great changes in amphibian ensembles in the Colombian Pacific rainforest. *Tropical Conservation Science*, 6(6), 749-769.
- Crump, M. L., & Scott, N. J. (1994). *Visual Encounter Surveys. In: Measuring and Monitoring Biological Diversity. Standard Methods for Amphibians*. Smithsonian Institution Press, Washington DC.
- Cuevas, M. F., & Martori, R. (2007). Diversidad trófica de dos especies sintópicas del género *Leptodactylus* (Anura: Leptodactylidae) del Sudeste de la provincia de Córdoba, Argentina. *Cuadernos Herpetológicos*, 21(1), 7-19.
- Del Río-García, J., Serrano-Cardozo, H. V., & Ramírez-Pinilla, M. (2014). Diet and microhabitat use of *Bolitoglossa cf. pandi* (Caudata: Plethodontidae) from the Cordillera Oriental of Colombia. *South American Journal of Herpetology*, 9(1), 52-61.
- Dirzo, R., Young, S. H., Mooney, A. H., & Ceballos, G. (2011). *Seasonally dry tropical forest: Ecology and conservation*. Island Press.

- Duellman, E. W. (2001). *Hylid frogs of Middle America*. Society for the study of amphibians and reptiles, Contributions to Herpetology.
- Duellman, E. W., & Trueb, L. (1994). *Biology of Amphibians*. The Johns Hopkins University Press.
- Harper, K. A., MacDonald S. E., Burton, P. J., Chen, J., Brosnoff K. D., Saunders, S. C., Euskirchen E. S., Roberts, D., Jaiteh M. S., & Esseen P. A. (2005). Edge influence on forest structure and composition in fragmented landscapes. *Conservation Biology*, 19, 768-782.
- Hilje, B., & Aide, M. T. (2012). Recovery of amphibian species richness and composition in a chronosequence of secondary forest, northeastern Costa Rica. *Biological Conservation*, 146, 170-176.
- Hillers, A., Veith, M., & Rödel M-O. (2008). Effects of forest fragmentation and habitat degradation on West African leaf-litter frogs. *Conservation Biology*, 22(3), 762-772.
- Hunter, M. (1996). Habitat degradation and loss. In: Hunter, M (Eds). *Fundamentals of Conservation Biology*. Blackwell Science. USA, 179-190.
- Isaacs-Cubides, P. J., & Urbina-Cardona, J. N. (2011). Anthropogenic disturbance and edge effects on anuran assemblages inhabiting cloud forest fragments in Colombia. *Naturaleza & Conservacao*, 9(1), 39-46.
- Janzen, D. H. (1988). Tropical ecological and biocultural restoration. *Science*, 239, 243-244.
- Joly, P., Miaud, C., Lehmann, A., & Grolet, O. (2001). Habitat matrix effects on pond occupancy in newts. *Conservation Biology*, 15, 239-248.
- Lott, E. J., & Atkinson, T. H. (2002). Biodiversidad y fitogeografía de Chamela- Cuixmala, Jalisco. In Noguera, F. A., Vega, J. H., García, A. N. and Quesada, M. (Eds.), *Historia Natural de Chamela* (pp. 83-97). Universidad Nacional Autónoma de México.
- MacFadden, S. W., & Capen, D. E. (2002). Avian habitats relationships at multiple scale in a New England forest. *Forest Science*, 48, 243-253.
- Martínez-Coronel, M., & Pérez-Gutiérrez, M. (2011). Composición de la dieta de *CRAUGASTOR LINEATUS* (Anura: Craugastoridae) de Chiapas, México. *Acta Zoológica Mexicana*, 27(2), 215-230.

- Menin, M., Rossa-Feres, D. C., & Giaretta A. A. (2005). Resource use and coexistence of two syntopic hylid frogs (Anura, Hylidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 22, 61-72.
- Meza-Santiago, L. (2014). Estudio de la dieta de *Smilisca fodiens* en una cronosecuencia de campos abandonados del Bosque Tropical Seco en la Region de Chamela, Jalisco, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. U. M. S. N. H.
- Morales, J., & Sarmiento, L. (2002). Dinámica de los Macroinvertebrados Edáficos y su relación con la vegetación en una sucesión secundaria en el páramo Venezolano. *Ecotrópicos*, 15(1), 99-110.
- Neckel-Oliveira, S., & Gascon, C. (2006). Abundance, body size and movement patterns of a tropical treefrog in continuous and fragmented forests in the Brazilian Amazon. *Biological Conservation*, 128, 208-315.
- Pizano, C., & García, H. (2014). *El bosque seco tropical en Colombia*. Instituto de investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá DC. Colombia.
- Portillo-Quintero, A. C., & Sánchez-Azofeifa A. G. (2010). Extend and conservation of tropical dry forest in the Americas. *Biological Conservation*, 143, 144-155.
- Promis, A., Caldentey, J., & Ibarra, M. (2010). Microclima en el interior de un bosque de *Nothofagus pumilio* y el efecto de una corta de regeneración. *Bosque (Valdivia)*, 31(2), 129-139.
- Ramírez-Bautista, A. (1994). *Manual y claves ilustradas de los anfibios y reptiles de la región de Chamela, Jalisco, México*. Cuadernos del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Ribeiro de Oliveira, F. F., & Cabral-Eterovick, P. (2010). Patterns of spatial distribution and microhabitat use by syntopic anuran species along permanent lotic ecosystems in the Cerrado of Southeastern Brazil. *Herpetologica*, 66(2), 159-171.
- Rittenhouse, T. A. G., Harper, E. B., Rehard, L. R., & Semlitsch, R. D. (2008). The role of microhabitats in the desiccation and survival of anurans in a recently harvested oak-hickory forest. *Copeia*, 807-814.
- Shoo, L. P., Olson, D. H., McMenamin, S. K., Murray, K. A., Van Sluys, M., Donnelly, M. A., Stratford, D., Terhivuo, J., Merino-Viteri, A., Herbert, Bishop, P. J., Corn, S.P.,

- Dovey L. Griffiths, R. A., Lowe, K., Mahony, M., McCallum, H., Shuker, J. D., Simpkins, C., Skerratt, L. F., Williams, S. E., Hero, J. (2011). Engineering a future for amphibians under climate change. *Journal of Applied Ecology*, 48(2), 487-492.
- Soto-Sandoval, Y. (2013). Uso del microhábitat nocturno de dos especies simpátricas (*Agalychnis dacnicolor* y *Smilisca fodiens*, Anura, Hylidae) en el Bosques Tropical Seco de Chamela, Jalisco, Mexico. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. U.M.S.N.H.
- Suazo-Ortuño, Alvarado-Díaz, J., & Martínez-Ramos, M. (2011). Riparian areas and conservation of herpetofauna in a tropical dry forest in western Mexico. *Biotropica*, 43 (2), 237-245.
- Suazo-Ortuño, I., Alvarado-Díaz, J., Mendoza, E., Lopez-Toledo, L., Lara-Urbe, N., Marquez-Camargo, C., Paz-Gutierrez, G., & Rangel-Orozco, J. D. (2015). High resilience of herpetofaunal communities in a human-modified tropical dry forest landscape in western Mexico. *Tropical Conservation Science*, 8(2), 396-423.
- Todd, B. D., Rothermel, B. B., Reed, R. N., Luhring, T. M., Schlatter, K., Trenkamp, L., & Gibbons, J.W. (2008). Habitat alteration increases invasive fire ant abundance to the detriment of amphibians and reptiles. *Biological Invasion*, 10, 539-546.
- Toft, C. A. (1985). Resource partitioning in amphibians and reptiles. *Copeia*, 1-21.
- Trejo, I., & Dirzo, R. (2000). Deforestation in seasonally dry tropical forest: A national and local analysis in Mexico. *Biological Conservation* 94, 133-142.
- Urbina-Cardona, J. N., Navas, C. A., González, I., Gómez-Martínez, M. J., Llano-Mejía, J., Medina-Rangel, G. F., & Blanco, A. (2014). Determinantes de la distribución de los anfibios en el Bosque Seco Tropical de Colombia: herramientas para su conservación. En: Pizano, C. y García, H. (Eds.). *EL BOSQUE SECO TROPICAL EN COLOMBIA II. Biodiversidad asociada al bosque seco* (pp. 163-189) Instituto Alexander von Humboldt. Bogotá, Colombia.
- Urbina-Cardona, J. N., Reynoso, V. H. & Dirzo, R. (2012). Spatio-temporal variation in edge effects on the herpetofauna of a Mexican tropical rain forest. In: Bezerra, A.D. and Ferreria, T.S. (Eds.). *Evergreens: Types, Ecology and Conservation* (pp. 97-120). Nova Science Publishers, Inc., NY – USA.

- Urbina-Cardona, J. N., & Reynoso, V. H. (2011). Descripción y modelado del microhábitat de los anfibios y reptiles que habitan la selva alta perennifolia de los Tuxtlas. En Reynoso, V. H. Y R. I. Coates (Eds). *Avances y perspectivas en la investigación de los Bosques Tropicales y sus alrededores: la región de Los Tuxtlas* (pp. 355-384). Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.
- Urbina-Cardona, J. N. (2008). Conservation of Neotropical herpetofauna: research trends and challenges. *Tropical Conservation Sciences*, 1(4), 359-375.
- Urbina-Cardona, J. N., Olivares-Pérez, M., & Reynoso V. H. (2006). Herpetofauna diversity and microenvironment correlates across the pasture-edge-interior gradient in tropical rainforests fragments in the region of Los Tuxtlas, Veracruz. *Biological Conservation*, 132, 61-75.
- Urbina-Cardona, J. N., & Londoño, M. C. (2003). Distribución de la comunidad de herpetofauna en áreas con diferente grado de perturbación antrópica en la Isla Gorgona, pacífico colombiano. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias*, 27(102), 105-113.
- Vitt, L. J. (2000). Ecological consequences of body size in neonatal and small-bodied lizards in the neotropics. *Herpetological Monographs*, 14, 388-400.
- Vitt, L. J., & Caldwell, J. P. (2014). *Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*. Academic Press.
- Vitt, L. J., Ávila-Pires, T.C.S., Esposito, M. C., Sartorius, S.S. & Zani, P. A. (2007). Ecology of *Alopoglossus angulatus* and *A. atriventris* (Squamata, Gymnophthalmidae) in western Amazonia. *Phyllomedusa*, 6(1), 11-21.
- Webb, J. K., & Shine, R. (1998). Using thermal ecology to predict retreat-site selection by an endangered snake species. *Biological Conservation*, 86, 233-242.
- Wygoda, M. (1988). Adaptive control of water loss resistance in an arboreal frog. *Herpetologica*, 44, 251-251.
- Zúñiga-Vega, J. J., Suárez-Rodríguez, M., Espinoza-Pérez, H., & Johnson, B. J. (2011). Morphological and reproductive variation among populations of the Pacific molly *Poecilia butleri*. *Journal of Fish Biology*, 79(4), 1029-1046.

5.9 Material suplementario

Material suplementario 1. Coeficiente de correlación de Pearson para determinar la correlación lineal entre las variables ambientales y estructurales del microhábitat de *A. dacnicolor* y *S. fodiens*.

Variables	Número variable	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Temperatura ambiental	1	1														
Temperatura sustrato	2	0.9779	1													
Humedad ambiental	3	0.1137	0.1155	1												
Humedad del sustrato	4	0.1817	0.1815	0.8298	1											
DAP	5	0.1664	0.1549	-0.0726	-0.0656	1										
Altura del refugio	6	0.3469	0.3392	0.2618	0.2506	0.1728	1									
Altura arbol o arbusto	7	0.215	0.2223	0.0957	0.1775	0.1928	0.3988	1								
Rocas	8	***	***	***	***	***	***	***	1							
Hojarasca	9	-0.3855	-0.3649	-0.457	-0.4148	-0.0229	-0.3366	-0.1226	***	1						
Herbáceas	10	0.1213	0.0947	0.0032	0.0426	-0.1641	-0.1939	-0.2604	***	0.1576	1					
Arbusto	11	-0.3169	-0.2429	0.1653	0.0345	-0.0345	-0.3661	-0.4045	***	0.1505	-0.1517	1				
Árbol	12	0.4774	0.4244	0.1068	0.1588	0.1588	0.6453	0.5495	***	0.3465	-0.3493	-0.6472	1			
Suelo desnudo	13	-0.3114	-0.3126	0.0028	-0.0747	-0.0747	-0.1975	0.1671	***	0.1017	-0.0599	0.1482	0.2137	1		
Ramas secas	14	-0.0853	-0.1027	0.1034	-0.0871	-0.0871	-0.0388	0.1284	***	0.0014	-0.0281	-0.0589	0.1755	0.1256	1	
Tronco tirado	15	0.0182	0.0294	-0.1042	0.4694	0.4694	-0.1779	-0.1818	***	0.0585	0.0822	0.1524	0.1408	-0.0348	-0.0363	1

Material suplementarios 2. Promedio, desviación estándar y rango de las variables ambientales y estructurales del microhábitat de *Agalychnis dacnicolor* y *Smilisca fodiens* en los diferentes estadios sucesionales del bosque tropical seco de la región de Chamela, Jalisco, México.

Variables	Unidad de medida	Pastizal			Bosque Inicial			Bosque Joven			Bosque Intermedio			Bosque Maduro		
		Promedio	SD	Rango	Promedio	SD	Rango	Promedio	SD	Rango	Promedio	SD	Rango	Promedio	SD	Rango
<i>Agalychnis dacnicolor</i>																
Temperatura del sustrato	°C	24.8	4	15-27.4	26	2.6	24.8-29.1	23.8	3.1	23.3-30	-	-	-	27.7	0.8	26.1-29.1
Humedad del sustrato	%	92.8	14	57.9-100	83.7	10.4	71.4-100	81.9	16.5	86.6-100	-	-	-	87.3	4.5	84.1-96.6
DAP	cm	3.6	2.7	2.5-12.9	5.6	4.2	1.3-10.5	7	7.2	1.2-39	-	-	-	10.3	9	2.7-34.1
Altura del refugio	cm	73.2	64	1.2-160	162.3	81.5	78-320	140.8	120.4	21-450	-	-	-	130.6	108.9	13-256
Altura del arbol o arbusto	cm	200	86	120-250	370.1	191.6	170-700	383	218.5	200-1000	-	-	-	515.5	434.8	115.5-1500
Rocas	%	0	0	0	10	0	0-10	0	0	0	-	-	-	62.2	25.1	49-100
Hojarasca	%	50	0	0-50	0	0	20-98	67.4	24	0-98	-	-	-	50	0	0
Herbaceas	%	51	33	0-51	63.3	31.5	20-98	22	7.5	20-30	-	-	-	35	0	0
Arbusto	%	75	28	50-100	78.6	18.5	50-100	63.1	36.7	93-100	-	-	-	56.8	21.2	30-100
Arbol	%	37.5	0	0-37.5	89.5	25.1	24-100	63.1	38.2	2-100	-	-	-	91.6	20.4	50-100
Suelo desnudo	%	25	11	25-50	0	0	0	0	0	0	-	-	-	45.8	20.8	25-70
Ramas secas	%	25	30	20-25	2	0	0-2	48.6	23.3	50-68	-	-	-	50.3	32.6	18-100
Troncos caídos	%	6	0	0-6	0	0	0	7	0	0-7	-	-	-	0	0	0
<i>Smilisca fodiens</i>																
Temperatura del sustrato	°C	25.2	2.7	24.1-29.8	26	2.6	24.8-29.1	23.8	3.1	23.3-30	27.1	1	25.1-29.1	27.7	0.8	26.1-29.1
Humedad del sustrato	%	89.3	13	47.2-100	83.7	10.4	71.4-100	81.9	16.5	86.6-100	94.2	6.3	80.2-100	87.3	4.5	84.1-96.6
DAP	cm	3.4	1.5	1.3-7.1	5.6	4.2	1.3-10.5	7	7.2	1.2-39	12.7	15.3	1.8-60	10.3	9	2.7-34.1
Altura del refugio	cm	90.2	68.6	1.95-250	162.3	81.5	78-320	140.8	120.4	21-450	271	116.4	125-600	130.6	108.9	13-256
Altura del arbol o arbusto	cm	178.2	103.8	80-500	370.1	191.6	170-700	383	218.5	200-1000	622.1	500.1	200-2100	525.5	434.8	115.5-1500
Rocas	%	22.2	16.6	10.5-34	10	0	0-10	0	0	0	0	0	0	62.2	25.1	49-100
Hojarasca	%	0	0	0	0	0	0	67.4	24	0-98	30	0	0-30	50	0	0-50
Herbaceas	%	51.2	33.6	20-100	63.3	31.5	20-98	22	7.5	20-30	66.2	24.6	45-96	35	0	0-35
Arbusto	%	62.5	28.8	24-100	78.6	18.5	50-100	63.1	36.7	93-100	0	0	0	56.8	21.2	30-100
Arbol	%	68.7	44.1	0-100	89.5	25.1	24-100	63.1	38.2	2-100	85.3	30.1	4-100	91.6	20.4	50-100

Suelo desnudo	%	18.6	6.2	10-25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	45.8	20.8	25-70
Ramas secas	%	75	0	0-75	2	0	0-2	48.6	23.3	50-68	10	0	0-10	50.3	32.6	18-100
Troncos caídos	%	0	0	0	0	0	0	7	0	0-7	20	0	0-20	0	0	0

6. Capítulo III. Efecto de la perturbación del hábitat sobre la respuesta al estrés de dos especies de ranas arborícolas del bosque tropical seco de Chamela, Jalisco, México.

6.1 Resumen

La perturbación antrópica del hábitat constituye la mayor amenaza para la sobrevivencia de los anfibios, entre otras causas, debido a que influye en características del microhábitat esenciales en su distribución y abundancia. En respuesta a la perturbación del hábitat, las especies capaces de adaptarse a los nuevos microambientes tendrán más posibilidad de sobrevivir que aquellas especies con poca plasticidad ecofisiológica. Una de las principales respuestas fisiológicas de los vertebrados ante estímulos estresantes como la perturbación del hábitat, es el aumento de glucocorticoides en la sangre y el cambio en la proporción de leucocitos, por lo que en el presente estudio se evalúan los niveles hormonales de corticosterona en suero (CORT), así como el perfil leucocitario e índice N/L de las ranas *Agalychnis dacnicolor* y *Smilisca fodiens* en sitios perturbados y sitios conservados de un bosque tropical seco. Ninguna de las dos especies presentó diferencias significativas en el nivel hormonal de CORT, el perfil leucocitario y el índice neutrófilo/linfocito (índice N/L) entre sitios perturbados y sitios conservados. Tampoco se encontró relación entre la LHC y el peso corporal con el índice N/L en ninguna de las dos especies. En conjunto, los indicadores fisiológicos evaluados en el presente trabajo nos permiten concluir que las ranas que habitan los ambientes perturbados presentan una respuesta al estrés que no difiere de la presentada por los animales que habitan los ambientes conservados.

6.2 Abstract

Among others reasons, anthropogenic hábitat disturbance is the greatest threat for amphibians survival because it affects directly essential microhabitat features in their abundance and distribution. In reponse to this disturbance, species capable of adapting to new microenvironments will more likely survive tan those with Little ecophysiological plasticity. A major physiological response of vertebrates to stressful stimuli, such as habitat disturbance, is the increase of glucocorticoids in their blood and the increase in leukocyte production, therefore, in this study, corticosterone hormone serum levels (CORT), as well as a leukocyte profile and N/L index are evaluate for the frogs *Agalychnis dacnicolor* and *Smilisca fodiens* in disturbed and preserved sites in a tropical dry forest. No significant diferences were found in neither CORT hormonal levels nor leukocyte profile (N/L) index between disturbed and preserved sites. Also, no relationship between LHC and the N/L index was found. Overall, the physiological indicators evaluated in this study allow us to conclude thar the frogs that inhabit disturbed environments have a stress response that does not differ from animals that inhabit preserved environments.

6.3 Introducción

La pérdida, degradación y fragmentación del hábitat debido a la perturbación antrópica constituye la mayor amenaza para la sobrevivencia de los anfibios debido a que influyen directamente en la calidad del hábitat (Cortés-Gómez et al., 2013) y en consecuencia sobre algunas características importantes del microhábitat, como la temperatura, disponibilidad de refugios y sitios de reproducción, factores esenciales en la distribución y abundancia de las especies de anfibios (Urbina-Cardona y Reynoso, 2011). Se ha reportado que algunas especies de anfibios seleccionan características particulares del microhábitat típicas de ambientes conservados, como bajas temperaturas, alta cobertura de hojarasca y un índice de humedad relativamente alto, y que sin estas características sus poblaciones podrían verse afectadas (Urbina-Cardona y Reynoso, 2011, Urbina-Cardona, Reynoso y Dirzo, 2012). Por otra parte, existen especies de anfibios que prefieren sitios con algún grado de perturbación, por lo que presentan características ecofisiológicas que les permiten que su distribución y abundancia no se vean afectadas cuando ocurre algún tipo de perturbación del hábitat (Cortés-Gómez et al., 2013). Así, ante la perturbación del hábitat, las especies capaces de adaptarse a los nuevos microambientes tendrán más posibilidad de sobrevivir que aquellas especies con poca plasticidad ecológica. Por lo tanto, la pérdida, degradación y fragmentación del hábitat pueden considerarse como factores potenciales de estrés de la vida silvestre (Johnstone et al., 2012). El estrés de un animal se define como las respuestas fisiológicas que se presentan ante cambios impredecibles a corto o largo plazo en las condiciones ambientales (Buchanan, 2000). Actualmente la fisiología de la conservación (Stevenson et al., 2005; Wilkelski y Cooke, 2006) se encarga de abordar problemas ecológicos desde un enfoque fisiológico, especialmente los que se centran en el estrés, ya

que éste es un factor importante para evaluar el bienestar de los animales. Una de las principales respuestas fisiológicas de los anfibios ante estímulos estresantes como la perturbación del hábitat, es el aumento de glucocorticoides en la sangre (corticosterona [CORT] en anfibios). Estas hormonas son producidas por las glándulas adrenales (glándula interrenal en anfibios) que forman parte del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA; HPI en anfibios) el cual ayuda a los animales a sobrevivir a contingencias ambientales mediante la movilización de reservas energéticas, así como en la modulación de la respuesta inmunológica y la supresión de respuestas fisiológicas no vitales como la reproducción (Sapolsky, 1993; Sapolsky et al., 2000). Es por ello que el estudio de los efectos del estrés sobre el bienestar, la salud y la reproducción de un organismo, se ha convertido en un objetivo primordial en la conservación de las especies (Romero, 2004).

Un método comunmente utilizado para evaluar la respuesta al estrés ha sido la medición de los niveles de CORT en sangre (Moore y Jessop, 2003; Romero, 2004; Wikelski y Cooke, 2006). Sin embargo, los niveles de esta hormona son altamente sensibles a la manipulación de los animales, por lo que pueden ser indicadores poco confiables en estudios en campo. Los niveles de CORT correlacionan con cambios en la proporción de los leucocitos del sistema inmunológico de los vertebrados (Davis et al., 2008). Este método consiste en contabilizar los globulos blancos (leucocitos) presentes en la sangre de los animales (en anfibios: linfocitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos y monocitos), los cuales pueden ser cuantificados y relacionados con los niveles de hormonas a partir del perfil leucocitario. Adicionalmente, se pueden observar cambios particulares en la proporción de dos tipos de leucocitos: los neutrófilos y los linfocitos (índice N/L). Por ello, el índice N/L (Davis et al., 2008) puede ser usado como indicador de la respuesta fisiológica de los organismos hacia

agentes estresantes como la fragmentación y degradación del hábitat (Cabagna et al., 2005; Barni et al., 2007; Johnstone et al., 2012).

Más allá de los estudios que evalúan la respuesta en abundancia, riqueza y diversidad de las especies de anfibios, no está claro si la perturbación del hábitat tiene otros impactos sobre este grupo de especies, en particular sobre los niveles de estrés que pueden tener efectos negativos sobre los individuos y las poblaciones de anfibios (Homan et al., 2003; Janin et al., 2011). Así, el estado físico individual, estimado por indicadores fisiológicos como el perfil leucocitario y el estado hormonal podrían ser relevantes para este propósito, ya que proporcionan información integral sobre los efectos subletales de la degradación del hábitat sobre los individuos (Homan et al., 2003). En el presente estudio evaluamos los niveles hormonales (niveles de CORT), así como el perfil leucocitario e índice N/L de las ranas arbóricolas *Agalychnis dacnicolor* y *Smilisca fodiens* en sitios perturbados y sitios conservados de un bosque tropical seco. Nuestra hipótesis es que tanto los niveles hormonales de CORT como el índice N/L de estas dos especies será mayor en los sitios perturbados en comparación con los sitios conservados. Además de esto, evaluamos la correlación entre los atributos corporales de las especies (longitud hocico cloaca y peso) con el índice N/L.

6.4 Metodología

6.4.1 Área de estudio

El área de estudio se ubicó en la reserva de la biosfera Chamela-Cuixmala y sitios aledaños, localizados en la costa de Jalisco, México (19°30'N, 105°03'W). La temperatura anual en la región es de 25.1°C y la precipitación promedio anual es de 788 mm (rango: 384-1,392mm). La vegetación predominante es el bosque tropical seco (BTS), con una altura del dosel que va de los 5 a los 10 m. La temporada de lluvias dura de los meses de julio a octubre y proporciona el 80% de la precipitación anual (Lott, 2002). Las actividades humanas, particularmente desde 1960, han transformado el paisaje de la región en un mosaico complejo con distintas coberturas del suelo y usos, predominando los pastizales para uso de ganado y cultivos agrícolas, mezclado con arbustos y árboles aislados. Y lo que resta de la vegetación se compone de parches de bosque maduro y vegetación secundaria en diferentes etapas de sucesión. Las primeras etapas del proceso de sucesión son generalmente dominadas por hierbas y arbustos. Aproximadamente 25-45 % del paisaje en la región corresponde BTS en diferentes etapas de sucesión y 55-75 % a bosque maduro (Burgos y Mass, 2004).

6.4.2 Sistema de estudio

Los sitios de muestreo se ubicaron dentro de las parcelas que forman parte del proyecto “Manejo de bosques tropicales en la reserva de Chamela, Jalisco” (MABOTRO) (Fig. 1). Se seleccionaron 6 sitios de muestreo, los cuales se agruparon en dos tratamientos: pastizales (sitios perturbados) y bosque maduro (bosque que no muestra evidente signo de disturbio humano). En cada sitio se ubicó una parcela permanente de 100 x 100 m, en la

cual se llevó a cabo la búsqueda de individuos de las especies *Smilisca fodiens* y *Agalychnis dacnicolor*.

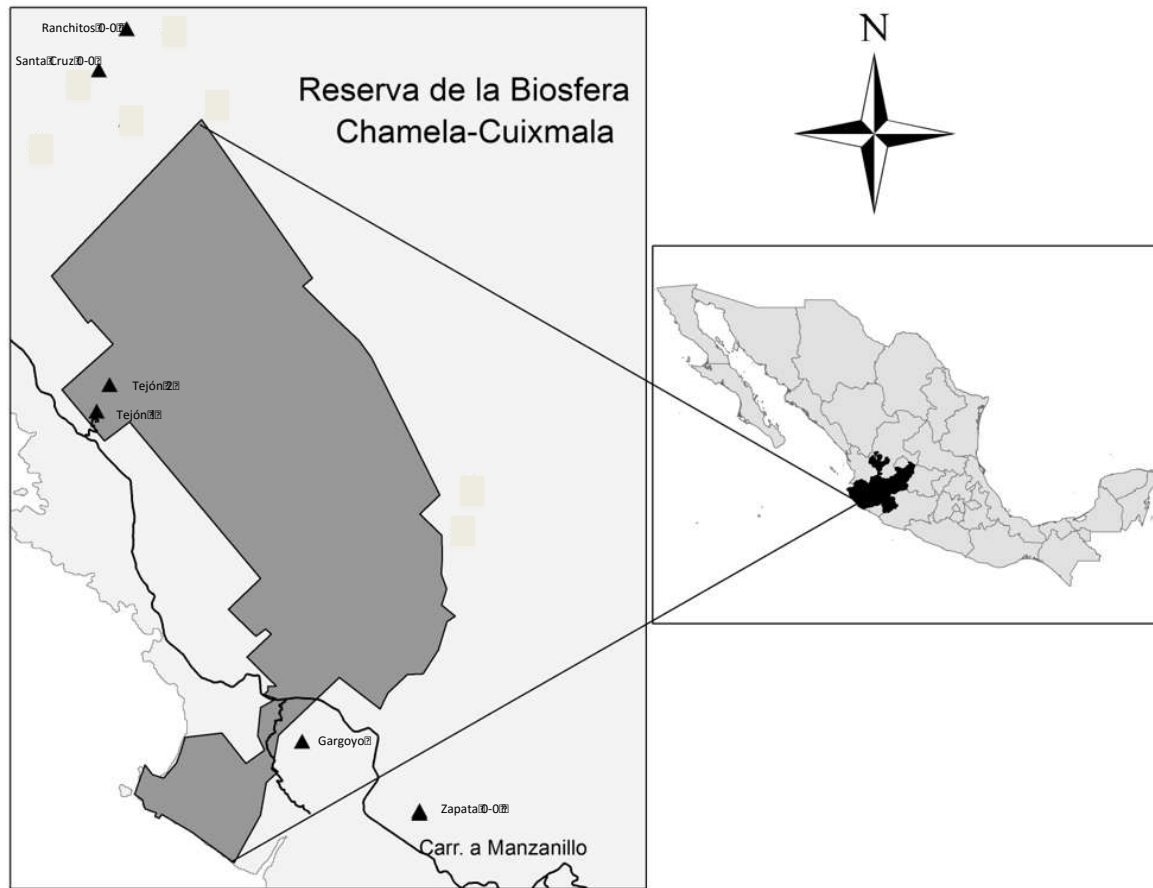


Fig. 1 Área de estudio y localidades de muestreo en la región de Chamela, Jalisco, México.

6.4.3 Muestreros

Se realizaron 2 salidas al campo de abril de 2014 a septiembre de 2014. Los muestreos se realizaron durante la noche (21:00-04:00) por 5 personas. Para la búsqueda de los individuos se usó la técnica de Búsqueda por Detección Visual [Visual Encounter Surveys (Crump y Scott, 1994)]. Una vez localizado el individuo se procedió a su captura. De cada individuo capturado se midió la longitud hocico-cloaca (LHC) con un vernier, y el peso (gr) de los organismos con pesolas de diferente granaje.

6.4.4 Trabajo de laboratorio

Para el análisis de niveles plasmáticos de corticosterona mediante el ensayo de inmunoabsorbencia ligada a enzimas (ELISA), los individuos fueron inmovilizados manualmente y sacrificados por decapitación, se colectaron 200 µl de sangre de una vena con una jeringa de 20G. La sangre colectada fue transferida a viales y mantenida a temperatura ambiente durante 30 minutos. Posteriormente se separó el suero mediante la implementación de una centrifuga, después fue congelado en nitrógeno líquido y transportado al laboratorio de Ecofisiología del INIRENA. Los niveles de corticosterona de *A. dacnicolor* y *S. fodiens* fueron analizados de acuerdo al método Elisa (55-CORMS-E01; Alpcó). La concentración de las muestras de los anfibios fueron determinadas utilizando utilizando una curva estándar de CORT (2250, 640, 185, 50, 15, 0 ng /µl), que consistió en la adición de 10 µl de cada solución conocida de CORT (calibradores), de muestras, seguido de 100µl de buffer de incubación y 50 µl de enzima de conjugación (peroxidasa de caballo) y fueron incubadas durante 2 horas a temperatura ambiente en agitación constante, posteriormente se descartó el contenido. Los pozos fueron lavados 4 veces adicionando 300 µl de solución de lavado y secados con papel absorbente. Enseguida se adicionaron 200 µl de solución substrato en cada pozo, y fueron incubados durante 30 minutos en la obscuridad con agitación constante, se detuvo la reacción adicionando 50 µl de solución stop, finalmente se determinó la absorbancia de cada pozo a 450 nm a lo largo de 15 minutos.

Para el análisis del perfil leucocitario y el índice N/L fueron utilizados los mismos individuos del análisis anterior. Se realizaron extendidos sanguíneos (frotis sanguíneos) colocando una gota de sangre en el extremo distal de un portaobjetos limpio,

posteriormente se deslizó hacia el extremo opuesto con ayuda de un segundo portaobjetos (Davis, 2009), dejando secar la muestra al aire. Una vez secos los frotis sanguíneos, se fijaron con alcohol etílico absoluto y se dejaron secar al aire. Los frotis fueron cubiertos con el colorante no diluido de Tinción de Wright durante 5 minutos. Se agregó buffer de Wright gota a gota hasta que apareció una nata metálica, y se dejó reposar por 15 minutos más. Posteriormente los frotis fueron sumergidos en agua corriente hasta que el colorante dejó de salir y fueron secados al aire (Lamothe-Argumedo, 1997), después fueron puestos en xileno por 10 minutos y se les aplicaron 2 gotas de Cytoseal para finalmente cubrirlos con cubreobjetos. Los frotis teñidos se observaron en el microscopio óptico siguiendo un patrón zigzag en microscopio óptico a 1000X para determinar la proporción de cada tipo de leucocito. El perfil leucocitario de ambas especies se obtuvo identificando los cinco tipos de células leucocitarias (basófilos, monocitos, eosinófilos, linfocitos y neutrófilos) hasta completar 100 células y de este conteo se observaron las diferencias entre los neutrófilos y linfocitos para así obtener el índice N/L (Davis et al., 2012; Davis y Maerz, 2008; Davis et al., 2008; Davis y Maerz, 2009). Los ejemplares fueron colectados bajo el permiso de colecta SEMARNAT permiso No. FAUT-0113.

6.4.5 Análisis de datos

Para evaluar diferencias en los niveles de estrés hormonal de CORT, el perfil leucitario y el índice N/L de *A. dacnicolor* entre sitios conservados y perturbados, se realizaron pruebas de *t de student* en las variables con distribución normal (neutrófilos, linfocitos, eosinófilos, índice N/L, LHC y peso) y pruebas de *U* de Mann-Whitney en las variables que no presentaron una distribución normal (monocitos y basófilos). Para el caso de *S. fodiens* solo se analizaron las diferencias en los niveles CORT entre sitios conservados y sitios

perturbados, debido a que las muestras para obtener el perfil leucocitario y el índice N/L no fueron viables.

Para evaluar la relación del índice N/L con los atributos corporales de los individuos (LHC y peso corporal) de *A. dacnicolor* entre sitios conservados y perturbados se realizó una regresión lineal. Para *S. fodiens* solo se realizó para los sitios perturbados. Todas las pruebas se realizaron por medio del programa estadístico Statistica 7 (Stat Soft, 2010).

6.5 Resultados

Se colectaron 20 individuos de *A. dacnicolor* (14 en sitios perturbados y 6 en sitios de bosque conservado) y 9 individuos de *S. fodiens* (7 en sitios perturbados y 2 en sitios de bosque conservado). La rana verde *A. dacnicolor* no presentó diferencias significativas en el nivel hormonal de CORT entre sitios perturbados y conservados ($U = 19.5$, $p = 0.22$). La rana *S. fodiens* tampoco presentó diferencias significativas en el nivel hormonal de CORT entre sitios conservados y perturbados ($t = -0.859$, $df = 7$, $p = 0.419$). Sin embargo, los niveles hormonales de CORT tendieron a ser mayores en sitios perturbados en *A. dacnicolor* (5409.49 ng/ml) en comparación con los sitios conservados (4294.21 ng/ml), mientras que en *S. fodiens* fueron menores en sitios perturbados (204.24 ng/ml) que los sitios conservados (295.03 ng/ml; Fig. 2, Anexo 1).

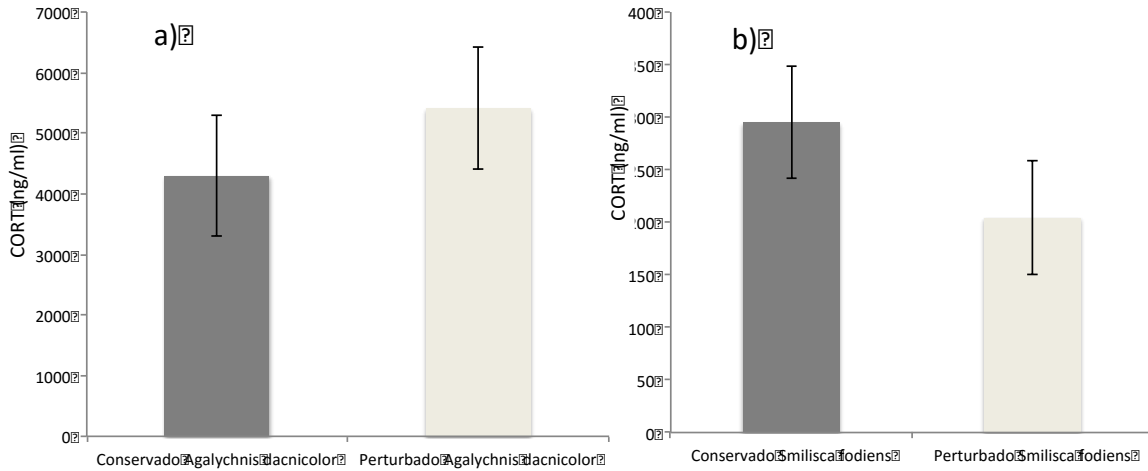


Fig. 2. Concentración hormonal (corticosterona) de a) *Agalychnis dacnicolor* y b) *Smilisca fodiens* en sitios conservados y perturbados del bosque tropical seco de Chamela, Jalisco, México.

En cuanto al índice N/L, *A. dacnicolor* no presentó diferencias significativas entre sitios conservados y perturbados ($t = 0.32$, $df = 18$, $p = 0.74$; Fig. 3).

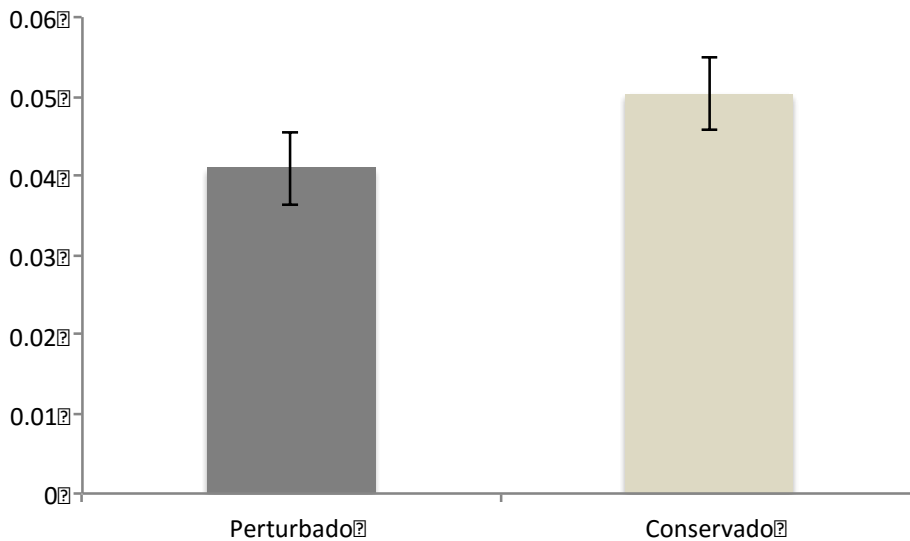


Fig. 3. Índice N/L de *Agalychnis dacnicolor* en sitios conservados y perturbados del bosque tropical seco.

A pesar de no encontrar diferencias estadísticas en los leucocitos entre sitios conservados y perturbados en la rana *A. dacnicolor* se registraron valores promedio más altos en los sitios perturbados en linfocitos, neutrófilos y basófilos (Tabla 1).

Tabla 1. Descripción estadística del perfil leucocitario, longitud hocico-cloaca (LHC) y peso de *Agalychnis dacnicolor* en sitios conservados y perturbados del bosque tropical seco.

Especie	Tipo de leucocito	Conservado		Perturbado		t-test(t/df)/U-test(z)	p
		Promedio	SD	Promedio	SD		
<i>Agalychnis dacnicolor</i>	Linfocito	72.3	26.4	74.9	24.7	t = 0.21,(18)	0.835
	Neutrófilo	3.5	3.3	4.8	5.1	t = -0.53,(18)	0.597
	Eosinófilo	5.6	5.3	5.5	5.1	t = -0.72,(17)	0.48
	Monocito	8	6.4	8	16.6	U = 38,(z = -0.32)	0.741
	Basófilo	2.5	1.73	3	1.4	U = 28,(z = -1.15)	0.248
	Índice N/L	0.05	0.04	0.04	0.06	t = -0.32,(18)	0.748
	LHC	14.1	2.2	22.5	9	t = 2.07,(18)	0.052
Peso	64.2	2.5	68.2	7	t=1.32,(18)	0.2	

Los valores del perfil leucocitario en los sitios perturbados para *S. fodiens* se muestran en la tabla 2. Las regresiones lineales no presentaron relación entre el Índice N/L y la LHC y peso corporal en ninguna de las especies.

Tabla 2. Promedio del perfil leucocitario, longitud hocico-cloaca (LHC) y peso de *Smilisca fodiens* en sitios perturbados del bosque tropical seco.

Especie	Condición	Linfocitos		Neutrófilos		Eosinófilos		Monocitos		Basófilos		Índice N/L		LHC		Peso	
		Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
<i>Smilisca fodiens</i>	Perturbado	72	28.48	1.75	1.5	1	0	2.5	1	2.5	0.7	0.014	0.015	48.5	17.07	18.06	18.43

6.6 Discusión

Este trabajo representa la primera investigación del perfil leucocitario y nivel hormonal de CORT de *Agalychnis dacnicolor* y *Smilisca fodiens* en sitios conservados y perturbados en un bosque tropical seco, por lo que los resultados obtenidos en este estudio servirán como base y referencia para futuras investigaciones en estas especies, en particular para conocer el estado de salud de las poblaciones en relación con los niveles de estrés con fines de conservación. Nuestros resultados indicaron que los niveles hormonales de CORT de *A. dacnicolor* no tuvieron una diferencia significativa entre sitios conservados y perturbados. Sin embargo, la tendencia a presentar mayores niveles en la concentración de CORT en los sitios perturbados puede ser indicativo de condiciones estresantes en estos sitios.

Resultados similares a los observados en *A. dacnicolor* han sido documentados previamente por Janin et al. (2011), quienes demostraron que los niveles de CORT observados en el bufo común (*Bufo bufo*) fueron alterados por la disponibilidad del hábitat y la fragmentación, así como también se vio afectada la condición corporal de esta especie. La concentración de CORT en *S. fodiens* tendió a ser mayor en sitios conservados, aunque similar a lo reportado en otras poblaciones de anfibios en condiciones naturales. Por ejemplo, los valores reportados para el anuro *Pleurodema thaul* (Leptodactylidae) varió de 7.98 a 191.15 ng/ml, la salamandra *Plethodon shermani* expuesta a extractos de feromona masculina, tuvo niveles circulantes de CORT superiores a los 50 ng/ml en promedio y para la salamandra terrestre *Desmognathus ochrophaeus* valores promedio de 20 ng/ml al momento de la captura y de 50 ng/ml después de la captura durante el periodo no reproductivo (Olivares-Zepeda, 2011; Ricciardella, 2010; Schubert et al., 2009). Sin embargo, no ocurrió así con las concentraciones de CORT de *A. dacnicolor* que presentó niveles muy altos en comparación con *S. fodiens* (4294.21 ng/ml vs 295.03 ng/ml) en sitios conservados y (5409.49 ng/ml vs 204.24 ng/ml) en sitios perturbados, esto es 14.5 veces más en sitios conservados y 26.4 veces más en sitios perturbados. En este sentido y toda vez que la toma de muestras y el protocolo de análisis de los niveles de CORT en sangre fueron similares para las dos especies, llama la atención los altos niveles de CORT en suero encontrados en *A. dacnicolor*. Una explicación probable es que *A. dacnicolor* es una especie que sufre mayor nivel de estrés en respuesta a la captura que se refleja en el disparo de los niveles de CORT, ya que de acuerdo con Narayan et al. (2013) los anfibios tienen como respuesta altos niveles de CORT en presencia de algún depredador o cuando se sienten amenazadas. En este estudio, este comportamiento fue más evidente en *A. dacnicolor*, ya que a la hora de la captura el intento de escape de las ranas fue más común

que en *S. fodiens* quien presentó un comportamiento mas pasivo. Generalmente se asume que la respuesta de CORT a la captura refleja una respuesta similar a la presencia de un depredador (Nayaran et al. 2013). Por otro lado, independientemente de la diferencia en los niveles de CORT registrados para cada especie, es destacable que aun y cuando no se registraron diferencias significativas entre sitios conservados y perturbados en ninguna de las dos especies, *A. dacnicolor* presentó menores concentraciones de CORT en los sitios conservados, mientras que *S. fodiens* presentó menores valores en los sitios perturbados. Este resultado podría indicar, aunque con cierta cautela, que aun y cuando las dos especies son consideradas generalistas de hábitat (Suazo-Ortuño et. al, 2015), *S. fodiens* es mas resiliente a la perturbación del hábitat que *A. dacnicolor*. En relación con el índice N/L no hubo diferencias significativas entre los sitios conservados y perturbados en *A. dacnicolor* (conservado = 0.05 vs perturbado = 0.04). Los valores del índice N/L encontrados en ambas condiciones fueron menores a los reportados para varias especies del género *Ambystoma* cuyos rangos varían de 0.15 a 1.2 (Ramírez-Henández, 2014; Davis y Maerz, 2010; Davis y Maerz, 2009; Davis, 2009; Davis y Maerz 2008a; Davis y Maerz, 2008b; Ussing y Rosenkilde, 1995; Deparis y Beetschen, 1967) y de acuerdo con Davis y Maerz (2010) y (2011) solo se considera que existen niveles de estrés entre dos condiciones cuando los valores del índice N/L son tres veces mayores al comparar los valores entre sí, por lo que se puede sugerir que la especie no se encuentra bajo niveles de estrés en los sitios perturbados. En relación con el perfil leucitario en comparación con otros anfibios, las proporciones de las células blancas de ambas especies se encuentran dentro de los rangos reportados para otras especies de anuros (Tabla 3). Aunque *S. fodiens* presenta los valores más bajos en el promedio de neutrófilos, eosinófilos, monocitos, basófilos y el índice N/L de los valores reportados.

Tabla 3. Valores promedio de las células blancas de varias especies de anuros bajo diferentes condiciones de estrés reportadas en éste y otros trabajos.

Especie	Condición	Linfocitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos	Monocitos	Índice N/L	Referencias
<i>Agalychnis saltator</i>	Conservado	72.3	3.5	5.6	2.5		8	0.05 Este trabajo
<i>Agalychnis saltator</i>	Perturbado	74.9	4.8	5.5		3	8	0.04 Este trabajo
<i>Smilisca fodiens</i>	Perturbado	72	1.75	1	2.5		2.5	0.014 Este trabajo
<i>Rana clamitans</i>	Conservado	66	16	17		1	1	0.24 Shulther et al. (2009)
<i>Bufo americanus</i>	Conservado	20	68	3		7	2	3.4 Forbes et al. (2006)
<i>Bombina orientalis</i>	Conservado	6.87	2.1	0.3	0.87		0.9	0.3 Wojtaszek y Adamowicz (2003)
<i>Rana catesbeiana</i>	Animales de laboratorio	62	22	8		2	0	0.35 Cathers et al. (1997)
<i>Notophthalmus virgatus</i>	Conservado	63	24	6		3	2	0.38 Bennett y Daigle (1983)
<i>Rana pipiens</i>	Animales de laboratorio	53	27	7		4	11	0.5 Rouff (1969)

Aunque en anfibios se ha documentado que diversos factores ambientales, tales como la presencia de depredadores, contaminantes ambientales, la fragmentación del hábitat y la presencia de parásitos pueden alterar los niveles de circulación de CORT y en consecuencia la proporción de leucocitos y el índice N/L (Denver, 1998; Fraker et al., 2009; Hossie et al., 2010; Peterson et al., 2009; Janin et al., 2011), de acuerdo con nuestro estudio al no encontrar una diferencia significativa en cuanto a los niveles de CORT, la proporción de leucocitos o en el índice N/L entre sitios conservados y perturbados, el eje HPI de ambas especies no se vio afectado por las condiciones del hábitat en las que se presentan, ya que la respuesta de un organismo ante los estímulos estresores depende de la magnitud y duración del mismo. Sin embargo, en muchos casos la retroalimentación negativa del eje HPI impide la elevación de los glucocorticoides a largo plazo (Cyr y Romero, 2007), pudiendo sugerir que en ambas condiciones las especies pueden manejar las condiciones estresantes del hábitat, aunque al parecer *S. fodiens* con mayor resiliencia a los niveles de estrés.

6.7 Conclusiones

Las ranas arborícolas del bosque tropical seco de Jalisco *A. dacnicolor* y *S. fodiens* no presentaron diferencias significativas en el nivel hormonal de CORT entre sitios perturbados y sitios conservados. Sin embargo, los niveles de CORT tendieron a ser mayores en sitios perturbados en *A. dacnicolor*, mientras que en *S. fodiens* fueron menores en sitios perturbados que los sitios conservados. En relación con el perfil leucocitario y el índice N/L, *A. dacnicolor* no presentó diferencias significativas entre sitios conservados y perturbados. Tampoco se encontró relación entre el índice N/L y la LHC y peso corporal en ninguna de las dos especies. Los resultados en su conjunto muestran que aunque ambas especies presentan tolerancia al estrés en los sitios perturbados, la rana *S. fodiens* parece presentar mayor tolerancia al estrés en los sitios perturbados.

6.8 Literatura citada

- Barni, S., Boncompagni, E., Grosso, A., Bertone, V., Freitas, I., Fasola, M., y Fenoglio, C. (2007). Evaluation of *Rana esculenta* blood cell responder to chemical stressors in the environment during the larval and adult phases. *Aquatic Toxicology*, 81, 45-54.
- Bennett, M.E., y Daigle K.R. (1983). Temperature, stress and the distribution of leukocytes in red-spotted newts, *Notophthalmus viridescens*. *Journal of Comparative Physiology*, 153, 81-83
- Buchanan, K.L. (2000). Stress and the evolution of condition-dependent signals. *Tree*, 15, 156-160.
- Burgos, A. y Mass, J. M. (2004). Vegetation change associated with land-use in tropical dry forest areas of Western Mexico. *Agriculture, ecosystems & environment* 104: 475-481.
- Cabagna, M.C., Lajmanovich, G., Stringhini, J.C., Sanchez-Hernandez, y Peltzer P.M. (2005). Hematological parameters of health status in the common toad *Bufo arenarum* in agroecosystems of Santa Fe Providence, Argentina. *Applied Herpetology*, 2, 373-380.
- Cathers, T., Lewbart, G.A., Correa, M., y Stevens J.B. (1997). Serum chemistry and hematology values for anesthetized American bullfrogs (*Rana catesbeiana*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 28, 171-174.
- Cortés-Gómez, M. A, Castro-Herrera, F. y Urbina-Cardona, J. N. (2013). Small changes in vegetation structure create great changes in amphibian ensembles in the Colombian Pacific rainforest. *Tropical Conservation Science* Vol.6 (6):749-769,2013
- Crump, M. L., & Scott, N. J. (1994). Visual Encounter Surveys. *In: Measuring and Monitoring Biological Diversity. Standard Methods for Amphibians*. Eds. Heyer, W., M. A. , Donnelley, R. A. , McDiarmid, L. C. , Hayec & M. C. , Foster. Smithsonian Institution Press, Washington D.C. USA. 84-92.
- Cyr, N.E. y Romero, L.M. (2007). Chronic stress in free-living European starlings reduces corticosterone concentrations and reproductive success. *Gen. Comp. Endocrinal*, 151, 82-89.

- Davis, A. K. (2009). The wildlife leukocytes webpage: The ecologist's source for information about leukocytes of wildlife species. <http://wildlifehematology.uga.edu> (Accesada en Marzo de 2013).
- Davis, A. K. (2012). Investigating the optimal rearing strategy for *Ambystoma* salamanders using a hematological stress index. *Herpetological Conservation and Biology*, 7(1) 95-100.
- Davis, A. K. y J. C. Maerz. (2008a). Comparison of hematological stress indicators in recently captured and captive paedomorphic mole salamanders, *Ambystoma talpoideum*. *Copeia*, 613–617.
- Davis, A. K. y J. C. Maerz. (2008b). Sex-related differences in hematological stress indices of breeding, paedomorphic mole salamanders. *Journal of Herpetology*, 42, 197-201.
- Davis, A. K. y J. C. Maerz. (2009). Effects of larval density on hematological stress indices in salamanders. *Journal of Experimental Zoology* 311, 697-704.
- Davis, A.K. y J. C. Maerz. (2010). Effects of exogenous corticosterone on circulating leukocytes of a salamander (*Ambystoma talpoideum*) with unusually abundant eosinophils. *International Journal of Zoology*.
- Davis, A. K., D. L. Maney y J. C. Maerz. (2008). The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologist. *Functional Ecology*, 22,760-772.
- Davis, A. K., A. Ferreira y J. C. Maerz. (2010). Effects of Chytridiomycosis on circulating white blood cell distributions of bullfrog larvae (*Rana catesbeiana*). *Comparative Clinical Pathology* 19: 49-55.
- Davis, A.K., y Maerz, J.C. (2011). Assessing stress levels of captive-reared amphibians with hematological data: implications for conservation initiatives. *Journal of Herpetology*, 45 (1), 40-44
- Denver, R.J. (1998). Hormonal correlates of environmentally induced metamorphosis in the Westwren spadefoot toad, *Scaphiopus hammondi*. *Gen. Comp. Endocrinol*, 110, 326-336.
- Deparis, P. y Beetschen, J.C. (1967). Comparative observations on some hematological characteristics of diploid and triploid salamanders (*Ambystoma mexicanum*). *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences. Série D:Sciences Naturelles*, 265, 382-385.

- Forbes, M.R. McRuer, D.L., y Shutler, D. (2006). White blood cell profiles of breeding American toads (*Bufo americanus*) relative to sex and body size. *Comparative and Clinical Pathology*, 15, 155-159
- Fraker, M.E., Hu, F., Cuddapah, V., McCallum S.A., Relyea, R.A., Hempel, R.J., y Denver, R.J. (2009). Characterization of an alarm pheromone secreted by amphibian tadpoles that induces behavioral inhibition and suppression of the neuroendocrine stress axis. *Horm. Behav*, 55, 520-528.
- Homan, N.R., Regosin, V.J., Rodrigues, M.D., Redd, M.J., Windmiller, S.B., y Romero M.L. (2003). Impacts of varying habitat quality on the physiological stress of spotted salamanders (*Ambystoma maculatum*). *Animal Conservation*, 6, 11-18.
- Hossie, T.J., Ferland-Raymond, B., Burness, G., y Murray, D.L. (2010). Morphological and behavioural responses of frog tadpoles to perceived predation risk: a possible role for corticosterone mediation?. *Ecoscience*, 17, 100-108.
- Janin, A., Léna, JP., y Joly, P. (2011). Beyond occurrence: Body condition and stress hormone as integrative indicators of habitat availability and fragmentation in the common toad. *Biological Conservation*, 144, 1008-1016.
- Johnstone, P., Lill, A., y Reina, R.D. (2012). Does habitat fragmentation cause stress in the agile antechinus? A hematological approach. *Journal of Comparative Physiology B*, 182, 139-155.
- Lamothe-Argumedo, R. (1997). Manual de técnicas para preparar y estudiar los parásitos de animales silvestres. México.
- Lott, E. J., y Atkinson, T.H. (2002). Biodiversidad y fitogeografía de Chamela- Cuixmala, Jalisco. In *Historia Natural de Chamela*. Noguera, F. A., Vega, J. H., García, A. N. and Quesada, M. (Eds.), pp. 83-97. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Moore, T.I., y Jessop, S.T. (2003). Stress, reproduction, and adrenocortical modulation in amphibians and reptiles. *Hormones and Behavior*, 43, 39-47.
- Narayan, E.J., Cockrem, J.F., y Hero, J-M. (2013). Sight of a predator induces a corticosterone stress response and generates fear in an amphibian. *PloS ONE*, 8 (8), e73564.
- Olivares-Zepeda, C.E. (2011). Influencia de la corticosterona en el umbral de respuesta vocal evocada y agresiva del anuro *Pleurodema thaul* (Amphibia; Leptodactylidae).

- Tesis de licenciatura. Universidad de Chile. Facultad de ciencias veterinarias y pecuarias. Santiago- Chile.
- Peterson, J.D., Peterson, V.A., y Mendoca M.T. (2009). Exposure to coal combustion residues during metamorphosis elevates corticosterone content and adversely affects oral morphology, growth, and development in *Rana sphenocephala*. *Comp. Biochem. Phys. C*, 149, 36-39
- Ramírez-Henández, G. (2014). Perfil leucocitario y carga parasitaria del ajolote de montaña (*Ambystoma ordinarium*) como indicadores de la perturbación del hábitat. Tesis de licenciatura. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Michoacán-México.
- Ricciardella, L., Bliley, J., Feth, C., y Woodley, S. (2010). Acute stressors increase plasma corticosterone and decrease locomotor activity in a terrestrial salamander (*Desmognathus ochrophaeus*). *Physiology & Behavior*, 101, 81-86.
- Romero, M.L. (2004). Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research. *TRENDS in Ecology and Evolution*, (19), 5, 249-255.
- Rouf, M.A. (1969). Hematology of the leopard frog, *Rana pipiens*. *Copeia*, 4, 682-687.
- Sapolsky, R.M. (1993). Endocrinology alfresco. Psychoendocrine studies of wild baboons. *Recent Progress in Hormone Research*, 48, 437-468.
- Sapolsky, R.M., Romero, M.L., y Munck, U.A. (2000). How do glucocorticoids influence stress-responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and adaptive actions. *Endocrine Reviews*, 21, 55-89.
- Schubert, N.S., Wack, L.C., Houck, D.L., Feldhoff, W.P., feldhoff, C.R., y Woodley, K.S. (2009). Exposure to pheromones increases plasma corticosterone concentrations in a terrestrial salamander. *General and Comparative Endocrinology*, 161, 271-275.
- Shutler, D., Smith, T.G., y Robinson, S.R. (2009). Relationships between leukocytes and hepatozon spp. in green frogs, *Rana clamitans*. *Journal of Wildlife Diseases*, 45, 67-72.
- StatSoft. Inc. (2010). Dell Co.
- Stevenson, R.D., Tuberty, S.R., Defur, P.L., y Wingfield, J.C. (2009). Eco-physiology and conservation: The contribution of endocrinology and immunology. Introduction to the symposium. *Integrative and Comparative Biology*, 45, 1-3.

- Suazo-Ortuño, I., Alvarado-Díaz, J., Mendoza, E., López-Toledo, L., Lara-Urbe, N., Márquez-Camargo, C., Paz-Gutiérrez, G., & Rangel-Orozco, J. D. (2015). High resilience of herpetofaunal communities in a human-modified tropical dry forest landscape in western Mexico. *Tropical Conservation Science* Vol. 8 (2): 396-423, 2015.
- Urbina-Cardona, J.N., Reynoso, V.H. y Dirzo, R. 2012. Spatio-temporal variation in edge effects on the herpetofauna of a Mexican tropical rain forest. Pp. 97-120, Chapter 3. In: Bezerra, A.D. and Ferreria, T.S. (eds.). *Evergreens: Types, Ecology and Conservation*. Nova Science Publishers, Inc., NY – USA.
- Urbina-Cardona, J. N., & Reynoso, V. H. (2011). Descripción y modelado del microhábitat de los anfibios y reptiles que habitan la selva alta perennifolia de los Tuxtlas. Págs 355-384, en Reynoso, V. H. Y R. I. Coates(eds). *Avances y perspectivas en la investigación de los Bosques Tropicales y sus alrededores: la región de Los Tuxtlas*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.
- Ussing, A. P. y P. Rosenkilde. 1995. Effect of induced metamorphosis on the immune system of the Axolotl, *Ambystoma mexicanum*. *General and Comparative Endocrinology* 97:308-319.
- Wikelski, M., y Cooke, S.J. (2006). Conservation physiology. *TREND in Ecology and Evolution*, (21) 2, 38-46.
- Wojtaszek, J., y Adamowicz, A. (2003). Haematology of the fire-bellied toad, *Bombina bombina* L. *Comp Clin Path*, 12, 129-134.

6.9 Anexo

Anexo 1. Concentración hormonal de *Agalychnis dacnicolor* y *Smilisca fodiens* en sitios conservados y perturbados del bosque tropical seco de Chamela, Jalisco, México.

<i>Condición</i>	<i>Especie</i>	<i>Concentración(ng/ml)</i>
<i>Perturbado</i>	<i>A. dacnicolor</i>	5540.783881
<i>Perturbado</i>	<i>A. dacnicolor</i>	2464.991263
<i>Perturbado</i>	<i>A. dacnicolor</i>	5372.891689
<i>Perturbado</i>	<i>A. dacnicolor</i>	6172.439571
<i>Perturbado</i>	<i>A. dacnicolor</i>	3030.933796
<i>Perturbado</i>	<i>A. dacnicolor</i>	8711.608167
<i>Perturbado</i>	<i>A. dacnicolor</i>	4261.295059
<i>Perturbado</i>	<i>A. dacnicolor</i>	4284.82626
<i>Perturbado</i>	<i>A. dacnicolor</i>	8845.724612
<i>Conservado</i>	<i>A. dacnicolor</i>	2486.266093
<i>Conservado</i>	<i>A. dacnicolor</i>	3045.261352
<i>Conservado</i>	<i>A. dacnicolor</i>	2238.262663
<i>Conservado</i>	<i>A. dacnicolor</i>	2464.991263
<i>Conservado</i>	<i>A. dacnicolor</i>	1365.475911
<i>Conservado</i>	<i>A. dacnicolor</i>	7465.82595
<i>Conservado</i>	<i>A. dacnicolor</i>	10993.40485
<i>Perturbado</i>	<i>S. fodiens</i>	72.39110244
<i>Perturbado</i>	<i>S. fodiens</i>	348.6594973
<i>Perturbado</i>	<i>S. fodiens</i>	82.8715371
<i>Perturbado</i>	<i>S. fodiens</i>	430.4521362
<i>Perturbado</i>	<i>S. fodiens</i>	90.83900075
<i>Perturbado</i>	<i>S. fodiens</i>	154.6302814
<i>Perturbado</i>	<i>S. fodiens</i>	249.8889381
<i>Conservado</i>	<i>S. fodiens</i>	298.6457358
<i>Conservado</i>	<i>S. fodiens</i>	291.4154183

7. Discusión general

La disponibilidad y diversidad de los hábitats influyen en la distribución e interacción de las especies (Begon, 2006). En anuros se ha demostrado que existen diferencias ecológicas importantes entre especies que coexisten en un mismo hábitat (Cabral y Sazima, 2000; Tokeshi, 1999). Aunque las especies de *A. dacnicolor* y *S. fodiens* son consideradas abundantes en el bosque tropical seco de Chamela, Jalisco (Marroquín-Páramo, 2014). La rana verde *A. dacnicolor* no presentó diferencias significativas en su abundancia a diferencia de la rana *S. fodiens*. Aunque ambas especies se registraron en los bosques secundarios y en los bosques maduros, *A. dacnicolor* tuvo preferencia por el bosque maduro mientras que *S. fodiens* prefirió los lugares perturbados, y presentó mayor plasticidad ecológica que *A. dacnicolor*. La abundancia en ambas especies fue mayor en la época de lluvias ya que en este periodo son más activos y su detectabilidad aumenta (julio-octubre; Lott & Atkinson, 2002). En cuanto a la biomasa, ninguna de las dos especies presentaron diferencias entre estadios sucesionales y temporadas climáticas. La rana *A. dacnicolor* presentó mayores tallas durante la temporada de lluvias, mientras que *S. fodiens* presentó diferencias en biomasa y LHC entre estadios sucesionales y temporadas climáticas, debido probablemente a su capacidad de cambiar de dieta a lo largo de la sucesión secundaria del bosque (Meza-Santiago, 2014). Aún y cuando la temperatura corporal de las dos especies varió en respuesta a la sucesión secundaria del bosque y a la temporada climática, cada especie presentó una respuesta diferente. El efecto que tienen los estadios sucesionales del bosque tropical seco y la interacción con las estaciones climáticas en la temperatura corporal de los individuos de ambas especies puede tener diferentes implicaciones fisiológicas, ya que la temperatura puede afectar el comportamiento y los

procesos metabólicos de los individuos (Toft, 1985; Webb & Shine 1998). La variación encontrada en las temperaturas corporales sugiere que estas especies están siendo afectadas diferencialmente por las condiciones del hábitat, así como por la estructura de la vegetación presente en los diferentes estadios sucesionales del BTS. Las variables ambientales y estructurales del hábitat que influenciaron la presencia de ambas especies dentro de los diferentes estadios sucesionales fueron la temperatura del sustrato, altura del árbol o arbusto y los porcentajes de hojarasca, herbáceas, arbustos, árboles y suelo desnudo. Las variables que mejor explicaron la biomasa, la LHC y la temperatura corporal de *S. fodiens* fueron las ramas secas y la temperatura del sustrato y en *A. dacnicolor* la biomasa estuvo mejor explicada por las herbáceas, la LHC por la altura del árbol o arbusto y la temperatura corporal por la temperatura del sustrato. Las ranas *A. dacnicolor* y *S. fodiens* utilizaron de forma diferencial las variables ambientales y estructurales del microhábitat conforme los estadios sucesionales aumentaron en edad. Las variables del microhábitat que separaron a ambas especies fueron la altura del refugio y el porcentaje de árboles en los diferentes estadios sucesionales. *A. dacnicolor* tendió a usar estos elementos de manera diferenciada en el bosque joven con respecto a los demás estadios sucesionales. *S. fodiens* también presentó diferencias en el uso del microhábitat en todos los estadios sucesionales, sin embargo, esta solo estuvo dada por diferencias en la altura del refugio y por el porcentaje de árboles que está utiliza a lo largo de la sucesión. De manera general se pudo observar que *A. dacnicolor* mantiene una preferencia por los estratos más bajos de la vegetación a lo largo de la sucesión, manteniendo un promedio de la altura de su refugio, mientras que *S. fodiens* mostró una amplia plasticidad en el uso del microhábitat al cambiar sus requerimientos a lo largo de la sucesión secundaria del bosque, en particular modificó el uso en la altura del refugio a lo largo de la sucesión secundaria. En este sentido, los

resultados de este estudio muestran que *A. dacnicolor* es una especie más especialista en el uso del microhábitat que *S. fodiens*. En cuanto a la diferenciación en el uso del microhábitat por sexo y estadios de desarrollo, los machos de la rana *A. dacnicolor* estuvieron más asociados a bosques maduros, mientras que hembras, crías y juveniles estuvieron más asociados al pastizal y el bosque joven.

En relación con la evaluación del perfil leucocitario y nivel hormonal de CORT de *Agalychnis dacnicolor* y *Smilisca fodiens* entre sitios conservados y perturbados, los resultados indicaron que los niveles hormonales de CORT de *A. dacnicolor* no tuvieron una diferencia significativa entre sitios conservados y perturbados. Sin embargo, la tendencia a presentar mayores niveles en la concentración de CORT en los sitios perturbados puede ser indicativo de condiciones estresantes en estos sitios (Janin et al., 2011). La concentración de CORT en *S. fodiens* tendió a ser mayor en sitios conservados, aunque similar a lo reportado en otras poblaciones de anfibios en condiciones naturales. Sin embargo, no ocurrió así con las concentraciones de CORT de *A. dacnicolor* que presentó niveles muy altos en comparación con *S. fodiens*, en sitios perturbados. Una explicación probable es que *A. dacnicolor* es una especie que sufre mayor nivel de estrés en respuesta a la captura que se refleja en el disparo de los niveles de CORT (Narayan et al., 2013). En relación con el índice N/L no hubo diferencias significativas entre los sitios conservados y perturbados en *A. dacnicolor*. Los valores del índice N/L encontrados en ambas condiciones fueron menores a los reportados para varias especies de salamandras (Ramírez-Henández, 2014). Estos resultados indican que ninguna de las dos especies presentan niveles de estrés considerable, ya que solo se considera que existen niveles de estrés entre dos condiciones cuando los valores del índice N/L son tres veces mayores al comparar los valores entre sí (Davis y Maerz, 2010, 2011). En relación con el perfil leucitario las proporciones de las

células blancas de ambas especies se encontraron dentro de los rangos reportados para otras especies de anuros. Por lo anterior se puede concluir que en ambas condiciones las especies pueden manejar las condiciones estresantes del hábitat, aunque al parecer *S. fodiens* presenta mayor resiliencia al estrés.

Considerando los resultados de este estudio en su conjunto y tomando en cuenta que para la mayoría de las especies se desconocen los requerimientos del microhábitat y el estrés fisiológico que la modificación del hábitat puede ocasionar en las especies, este estudio provee información relevante, al evaluar la respuesta a la sucesión secundaria del bosque de dos especies que coexisten en un mismo hábitat. En este sentido, la rana verde *A. dacnicolor* resultó ser una especie con mayor especialización en el uso del microhábitat, mientras que *S. fodiens* resultó ser una especie con mayor plasticidad ecológica en el uso del microhábitat y en su respuesta al estrés. Estas diferencias entre las especies podrían explicar en parte porque algunas especies de anfibios son más exitosas en los ambientes antropizados que otras.

7.1 Literatura citada

- Begon, M. (2006). Ecology: from individuals to ecosystem. 4th ed.
- Cabral, P., y Sazima, I. (2000) Structure of an anuran community in a montane meadow in southeastern Brazil: effects of seasonality, hábitat, and predation. *Amphibia-Reptilia*, 21, 439-461
- Davis, A. K., A. Ferreira y J. C. Maerz. (2010). Effects of Chytridiomycosis on circulating white blood cell distributions of bullfrog larvae (*Rana catesbeiana*). *Comparative Clinical Pathology* 19: 49-55.
- Davis, A.K., y Maerz, J.C. (2011). Assessing stress levels of captive-reared amphibians with hematological data: implications for conservation initiatives. *Journal of Herpetology*, 45 (1), 40-44
- Janin, A., Léna, JP., y Joly, P. (2011). Beyond occurrence: Body condition and stress hormone as integrative indicators of hábitat availability and fragmentation in the common toad. *Biological Conservation*, 144, 1008-1016.
- Lott, E. J., y Atkinson, T.H. (2002). Biodiversidad y fitogeografía de Chamela- Cuixmala, Jalisco. In *Historia Natural de Chamela*. Noguera, F. A., Vega, J. H., García, A. N. and Quesada, M. (Eds.), pp. 83-97. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Marroquín-Páramo, J.A. (2014). Efecto del huracán Jova en la comunidad de anfibios en diferentes estadios sucesionales en un bosque tropical seco de Chamela, Jalisco, México. Tesis de maestría. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Michoacán-México.
- Meza-Santiago, L. (2014). Estudio de la dieta de *Smilisca fodiens* en una cronosecuencia de campos abandonados del Bosque Tropical Seco en la Region de Chamela, Jalisco,

- México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Michoacán-México.
- Narayan, E.J., Cockrem, J.F., y Hero, J-M. (2013). Sight of a predator induces a corticosterone stress response and generates fear in an amphibian. *PloS ONE*, 8 (8), e73564.
- Ramírez-Henández, G. (2014). Perfil leucocitario y carga parasitaria del ajolote de montaña (*Ambystoma ordinarium*) como indicadores de la perturbación del hábitat. Tesis de licenciatura. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Michoacán-México.
- Tokeshi, M. (1999). *Species Coexistence. Ecological and Evolutionary Perspectives.* Blackwell Science.
- Toft, C. A. (1985). Resource partitioning in amphibians and reptiles. *Copeia*, 1-21.
- Webb, J. K., & Shine, R. (1998). Using thermal ecology to predict retreat-site selection by an endangered snake species. *Biological Conservation*, 86, 233-242.