

Doi.

Artículo de investigación

Prevalencia del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* en anfibios distribuidos en bosque mesófilo de montaña en el sur de México

Prevalence of the fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* in amphibians distributed in montane mesophilic forest in southern Mexico

Prevalência do fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* em anfíbios distribuídos em floresta mesofílica montana no sul do México

Sarahi Toribio-Jiménez¹ ID. 0000-0002-9243-2649
José Luis Rosas-Acevedo^{1*} ID. 0000-0003-2744-7454
Yanet Romero-Ramírez² ID. 0000-0002-8383-4128
Columba Rodríguez-Alviso¹ ID. 0000-0001-9600-8776
Sergio García-Ibáñez³ ID. 0000-0003-0967-6878
Rosa María Brito-Carmona¹ ID. 0000-0002-9129-5208

¹Centro de Ciencias de Desarrollo Regional, Universidad Autónoma de Guerrero, Privada de Laurel No. 13 Col. El Roble, 39640, Acapulco, Guerrero., México.

²Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Av.

Lázaro Cárdenas s/n, Ciudad Universitaria Sur, 39086, Chilpancingo, Guerrero, México.

³Facultad de Ecología Marina, Universidad Autónoma de Guerrero. Av. Gran Vía Tropical 20, Fracc. Las Playas, 39390, Acapulco de Juárez, Guerrero, México.

*Autor de correspondencia jlrosas@uagro.mx

Enviado: 09/02/2024

Revisado: 02/03/2024

Aprobado: 18/05/2024

Publicado: 20/06/2024

Resumen

La pérdida de las áreas de distribución de la biodiversidad es ocasionada por el estrés que las actividades antropogénicas ejercen en los ecosistemas desde lo local a lo global. Se evaluó la presencia del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* en 26 especies de anfibios asociados a bosque mesófilo de montaña. La infección por quitriomicosis fue diagnosticada por PCR a partir de hisopados cutáneos de anfibios. Los especímenes fueron muestreados en un gradiente altitudinal (500 a 2000 msnm) en temporadas de lluvias y secas. De acuerdo con el análisis Rho de Spearman, se mostró una relación positiva para la ocurrencia de *B. dendrobatidis* en variables como la temperatura corporal, temperatura del sustrato y la humedad, en combinación con otras variables como la etapa de desarrollo y tipo de ambiente que se sabe influyen en la

presencia y desarrollo de *B. dendrobatidis*. Así mismo, se encontró que las especies con desarrollo larvario de vida libre tienen mayor probabilidad de infectarse en comparación con las de desarrollo directo, de este modo, se registraron individuos de anfibios con signos clínicos visibles por quitriomicosis. Los resultados indican que la presencia y prevalencia de *B. dendrobatidis* está relacionada con la susceptibilidad o resistencia de cada una de las especies y su interacción con diversas variables ecológicas; de este modo se encontró que *Exerodonta sumichrasti* y *Ptychohyla leonhardschultzei* resultaron positivas a infección por *B. dendrobatidis*, y en las cuales no hay registros previos en estos ecosistemas.

Palabras clave: Ranas, Quitriomicosis, PCR, Gradiente altitudinal, Temperatura.

Abstract

The loss of biodiversity distribution areas by anthropogenic activities caused for the stress exert on ecosystems from the local to the global level. The presence of the fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* was evaluate in twenty-six species of amphibians associated with mountain cloud forest. Chytridiomycosis infection from amphibian skin swabs was diagnose by PCR. The specimens of amphibian were sample at an altitudinal gradient (500 to 2000 meters above sea level) in rainy and dry seasons. According to Spearman's Rho analysis, a positive relationship was show for the occurrence of *B. dendrobatidis* in variables such as body temperature, substrate temperature and humidity, in combination with other variables such as the stage of development and type of environment known the *B. dendrobatidis* presence and development to be influence. Likewise, it was founded that amphibian species with free-living larval development have a greater probability of becoming infected compared to those with direct development in this way, amphibian individuals with visible clinical signs of chytridiomycosis were recorded. The results indicate that *B. dendrobatidis* presence and prevalence is related to the susceptibility or resistance of each of the species and its interaction with various ecological variables; in this way, the amphibian *Exerodonta sumichrasti* and *Ptychohyla leonhardschultzei* they were positive for *B. dendrobatidis* infection and, there are no previous records in these ecosystems.

Keywords: Frogs, Chytridiomycosis, PCR, Altitudinal gradient, Temperature.

Resumo

A perda de áreas de distribuição da biodiversidade é causada pelo estresse que as atividades antropogênicas exercem sobre os ecossistemas em níveis local e global. A presença do fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* foi avaliada em 26 espécies de anfíbios associadas a florestas nubladas montanhosas. A infecção por quitriodistose foi diagnosticada por PCR utilizando swabs cutâneos de anfíbios. Os espécimes foram coletados ao longo de um gradiente altitudinal (500 a 2000 m acima do nível do mar) durante as estações chuvosa e seca. De acordo com a análise de correlação de Spearman, foi encontrada uma correlação positiva entre a ocorrência de *B. dendrobatidis* e variáveis como temperatura corporal, temperatura do substrato e umidade, em combinação com outras variáveis como estágio de desenvolvimento e tipo de ambiente, que são conhecidas por influenciar a presença e o desenvolvimento de *B. dendrobatidis*. Da mesma forma, constatou-se que espécies com desenvolvimento larval de vida livre têm maior probabilidade de serem infectadas em comparação com aquelas com desenvolvimento direto. Assim, indivíduos de anfíbios com sinais clínicos visíveis de quitriomicose foram registrados. Os resultados indicam que a presença e a prevalência de *B. dendrobatidis* estão relacionadas à suscetibilidade ou resistência de cada espécie e à sua interação com diversas variáveis ecológicas. Por exemplo, *Exerodonta sumichrasti* e *Ptychohyla leonhardschultzei* apresentaram resultado positivo para infecção por *B. dendrobatidis*, e não há registros anteriores dessas espécies nesses ecossistemas.

Palavras-chave: Rãs, Quitriiomicose, PCR, Gradiente altitudinal, Temperatura.

Introducción

Un ecosistema es un área geográfica o un lugar específico en el que ciertos organismos vivos interactúan entre sí y con el entorno que habitan (Gómez-Márquez, 2023). Los anfibios de todas las regiones biogeográficas del planeta se encuentran expuestos a diversos factores ecológicos que causan la disminución de su población, principalmente, temperatura y humedad; ambas conllevan un efecto negativo en su ciclo reproductivo, como malformaciones congénitas que limitan su supervivencia en el ambiente, lo que las hace más vulnerables a la depredación y a la pérdida o extinción (Parra-Olea *et al.*, 1999; Young *et al.*, 2016). Uno de los principales

procesos que ocasionan alteración de la temperatura, es la fragmentación del hábitat, las variaciones de la temperatura favorecen la propagación de hongos patógenos, que causan afectación a los anfibios, entre estos se encuentra *B. dendrobatidis* causante de quitriomicosis, esta enfermedad afecta las zonas queratinizadas de la piel de los anfibios (Berger *et al.*, 1998; 2002). Es una enfermedad categorizada como emergente y de rápida diseminación (Drew *et al.*, 2006), descrita en diferentes poblaciones de anfibios a nivel mundial (Berger *et al.*, 2005a,b; Johnson y Speare, 2005). Se ha registrado la presencia de este hongo en poblaciones en cautiverio y silvestres (Boyle *et al.*, 2004), algunas variables ecológicas mantienen bajas las densidades del

hospedero; así mismo, favorece la producción y diseminación de zoosporas que son la causa principal de las altas tasas de morbilidad y mortalidad de anfibios (Berger *et al.*, 2005a,b; Lips *et al.*, 2004); la afectación registrada es a más de 300 especies, por lo que es una de las causas importantes que propician su declinación (Berger, *et al.*, 2002; Lips, *et al.*, 2003; Kriger y Hero, 2007).

El hongo *B. dendrobatidis* se desarrolla en un amplio intervalo de temperaturas en el ambiente (Drew *et al.*, 2006); por otro lado, en condiciones de laboratorio su desarrollo es entre los 17°C - 26°C, con un óptimo de 23°C (Piotrowski *et al.*, 2004). De esta manera, a temperaturas $\geq 28^\circ\text{C}$, y $\leq 10^\circ\text{C}$, no es capaz de desarrollarse, o su tasa de replicación puede ser muy baja (Piotrowski *et al.*, 2004); por lo tanto, las poblaciones de anfibios que viven a estas temperaturas no están en riesgo de infección y no se ven afectadas. Sin embargo, se considera a la temperatura como un factor determinante para la persistencia del patógeno en diferentes hábitats, por ello es importante, estudiar las variaciones de temperatura en los hábitats donde se desarrollan los anfibios (Brem y Lips, 2008).

Consideramos que la susceptibilidad de los anfibios está relacionada con la exposición de las especies a las zoosporas de *B. dendrobatidis* y a las condiciones ambientales idóneas (temperatura). La exposición de los anfibios puede estar relacionadas con las características fisiológicas y la abundancia a nivel de familia, por lo que se espera que aquellas familias de anfibios con mayor número de especies asociadas a cuerpos de agua tengan mayor tasa de infección por *B. dendrobatidis* en estos microhábitats.

Además de la temperatura del ambiente, se espera que la temperatura del sustrato, que oscila entre los 24° a 16° C, la humedad relativa arriba del <80% y la precipitación promedio entre los 1000- 1200 mm, propician una mayor tasa de infección por quitridiomycosis por presentar condiciones ambientales idóneas para el desarrollo de *B. dendrobatidis*.

Por consiguiente, el objetivo de este trabajo es conocer las variables ambientales, la historia de vida e identidad taxonómica de diferentes especies de anfibios en el bosque mesófilo de

montaña de la Sierra de Atoyac, Guerrero, que predisponen un mayor riesgo para la infección por *B. dendrobatidis* y reducción de sus poblaciones.

Metodología

Se realizó un estudio observacional descriptivo, en dos etapas: 1) trabajo de campo; y, 2) investigación de laboratorio.

Trabajo de campo

Sitio de muestreo. Se seleccionó la Sierra de Atoyac de Álvarez, Guerrero, por la variedad de endemismo. Existen en la región registros de siete especies de anfibios: *Craugastor guerreroensis*, *C. saltator*, *Eleutherodactylus dilatus*, *Driophytes arboricola*, *Ptychochyla erithromma*, *Sarcochyla chryses* y *Charadrahyla trux* de familias que presentan hábitos diferentes (Eleutherodactylidae más de hojarasca y suelo e Hylidae que tiende a ser arborícola, aunque también existen especies acuáticas, saxícolas o que viven en hojarasca). Se estratificó la Sierra de Atoyac, por intervalos de elevación, desde los 500 a los 2000 msnm, esto abarca diferentes ejidos: Corrales de Río Chiquito, El Molote, Pie de la Cuesta, Río Santiago, Río Verde, Nueva Delhi, San Juan de las Flores, San Vicente de Benítez y San Vicente de Jesús (Tabla 1). Todos los sitios de muestreo se categorizaron por tipo de vegetación de bosque mesófilo de montaña (BMM), repartidos en tres áreas de estudio por intervalo de elevación (500 a 1000 msnm; 1001 a 1500 msnm; 1501 a 2000 msnm) y cinco transectos en cada intervalo altitudinal, con un total de 15 sitios potenciales dentro del BMM; los muestreos se realizaron de abril de 2017 a diciembre de 2018 (Figura 1), se tomó en cuenta la estacionalidad de la zona (lluvias y sequías), se obtuvo un esfuerzo total invertido de aproximadamente 50 días y 510 h/hombre, con el fin de abarcar los diferentes horarios de actividad de las especies de anfibios (Parra-Olea *et al.*, 1999).

Colección de muestras de piel de anfibios. Se colectó con ayuda de un hisopo estéril, un total de 300 muestras de piel de individuos anfibios dentro del gradiente altitudinal. Debido a los hábitos nocturnos de estas especies, el horario de

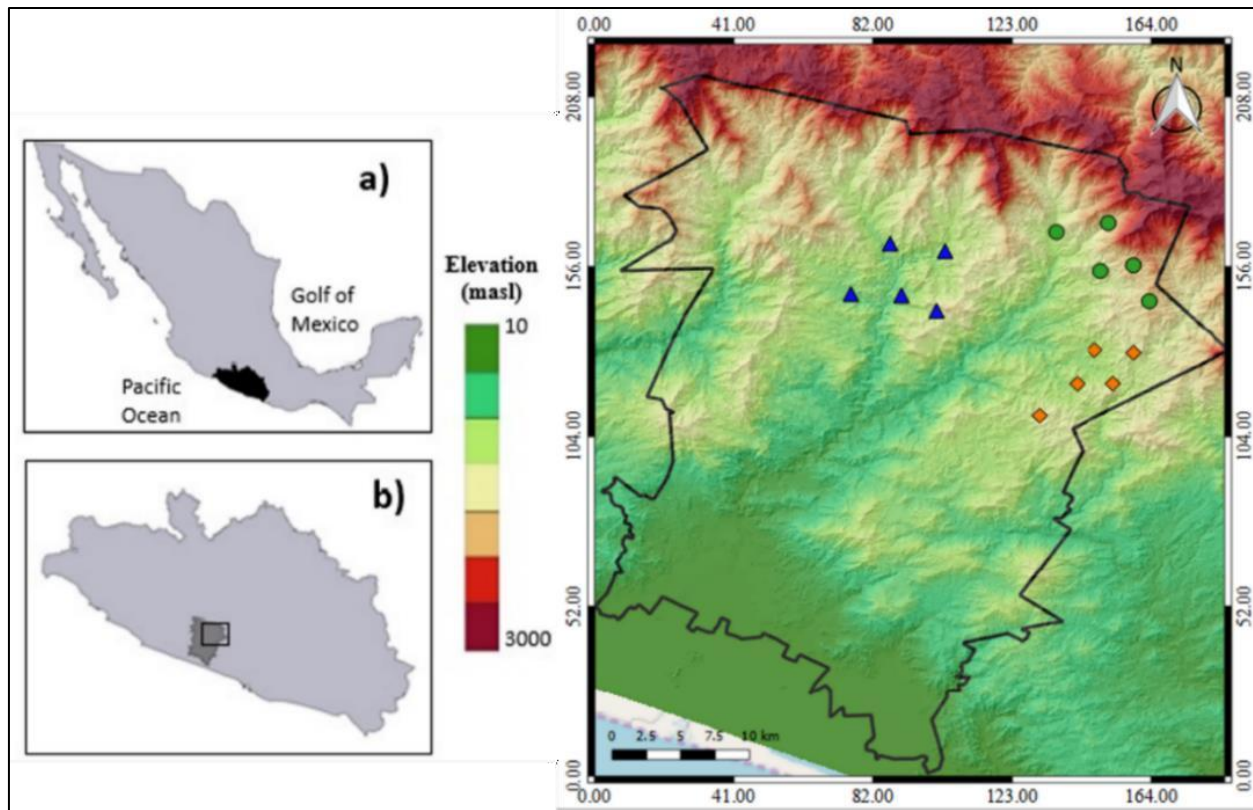


Figura 1. Localización del área de estudio y niveles altitudinales: a) ubicación del estado de Guerrero, en México, b) área de estudio en el municipio de Atoyac de Álvarez, perteneciente del estado de Guerrero, c) puntos de colectas dentro del gradiente altitudinal: 700 msnm (triángulos azules), 1200 msnm (rombos naranjas), 1800 msnm (círculos verdes).

búsqueda de los individuos se realizó por encuentro ocasional durante la noche entre las 19:00 y 03:00 h. aprox. Los lapsos que incluyeron la captura y registro del espécimen fueron de entre 6 y 8 h. Los 300 individuos colectados se colocaron individualmente en bolsas estériles desechables, se registraron los datos de cada individuo en la bitácora de campo, considerando los aspectos que sirvieron para la determinación de la especie, sus características y las condiciones del medio en que se encontró. Para el estudio, los datos contemplados fueron: código del individuo muestreado, nombre de la especie, localidad y altitud en la que fue colectada, número de colecta, fecha y hora de captura, microhábitat y medidas del individuo *Hocico-Cloaca* (Kriger *et al.*, 2006a).

Así mismo, se tomaron los datos ambientales asociados a cada sitio de muestreo, como son

temperatura del ambiente, del sustrato y corporal del individuo, con un termómetro infrarrojo; la humedad mediante un higrómetro, HTC-1; también, las coordenadas de la colecta para cada uno de los individuos; otras variables que se tomaron por sitios de muestreo fueron la precipitación (pluviómetro, Hellman), elevación de la pendiente y la cobertura del dosel, para su posterior correlación con la prevalencia de las quitriomicosis.

Los equipos de campo, como redes, instrumentos y botas fueron desinfectados con etanol al 96%, en el lugar de trabajo para evitar la dispersión del hongo en los demás sitios de muestreo.

Toma de muestra. Los individuos muestreados fueron de etapa metamórfica y adulta, en la cercanía de los sitios. De acuerdo con Kriger *et*

Tabla 1. Características ambientales por promedio en cada uno de los poblados, de acuerdo con los intervalos de elevación donde se ubicaron los 15 sitios de muestreos para la toma de muestra epitelial de anfibios. Las zonas de muestreo fueron de extensión variable, de tal manera que el muestreo se aplicó en puntos aleatorios, de acuerdo con los hábitos biológicos y características fisiológicas de cada especie, además, se consideró el tipo de microhábitat ripario, terrestre, arborícola, saxícola y acuático (Kriger y Hero, 2007).

Poblado	Elevación	Coordenadas	Vegetación	Temperatura °C	Precipitación mm	Humedad %
Corrales de Río		17° 22' 48.71"				
Río Santiago		100° 25' 46.30"				
San Vicente de Benítez	500 a 1000	17°15'10.69" 100°19' 3.04"	BMM	24° a 26°	1200 a 1500	70%
		17°17'50.33" 100°16'59.97"				
Río Verde		17° 16' 37.36" 100°16'15.32"				
San Vicente de Jesús	1000 a 1500	17° 16' 37.36" 100°16'15.32"	BMM	22°	1300 a 1700	80%
Nueva Delhi		17° 33' 07.41" 100° 16' 03.11"				
El Molote	1500 a 2000	17°26'11.30" 100°20'57.56"	BMM	18° a 20°	1300 a 1700	85%
Pie de la cuesta		17°31'24.45" 100°20'57.56"				

al. (2006a,b) a cada individuo se le tomó una muestra cutánea, mediante hisopo estéril. La técnica descrita consiste en pasar girando un hisopo estéril de rayen con punta fina por el cuerpo del individuo, pasando el hisopo por el vientre, el dorso, en las ancas y en las falanges o membrana interdigital, debido a que son las zonas más queratinizadas en los anfibios, y poder asegurar encontrar las zoosporas del hongo. Una vez tomada la muestra, el hisopo se descargó en placas Petri con un medio de cultivo sólido compuesto por triptona, peptona, agar bacteriológico y antibiótico, con el fin de inhibir el crecimiento bacteriano y favorecer el crecimiento de hongos; estas fueron incubadas a 23°C durante cinco y 10 días (Olsen *et al.*, 2004; Kriger *et al.*, 2006a,b; Luja *et al.*, 2012).

Trabajo de laboratorio

De las 300 muestras colectadas de los individuos de anfibios, solo en 177 se presentó crecimiento de hongos sin filamentos, a estas se les extrajo el ADN; para esto, se usó el kit de extracción GeneJet genomic DNA purification (Thermo Scientific ®), de acuerdo con el protocolo de Boyle *et al.* (2004), una vez que el ADN fue cuantificado, se conservó a -20°C para la Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) en su variante punto final, para determinar la presencia del *B. dendrobatidis*.

Detección de B. dendrobatidis en las muestras. Las condiciones e iniciadores fueron los reportados por Annis (2004), la reacción de PCR se hizo a un volumen final de 25 µl (buffer 1X (2.5 µl), dNTP's (2.5 µl), MgCl₂, 2.5 µl, oligo

Bd1 y oligo Bd2 (2 µl de cada uno) a una concentración de 10 pmol y 0.3 de Taq polimerasa y 13.2 de H₂O miliQ). Se utilizó como control positivo DNA de la cepa AL211 donada por el Laboratorio de Biología Molecular de la UNAM, y como control negativo se utilizó agua miliQ estéril. Las condiciones de amplificación fueron: un ciclo a 94°C durante 8 min, seguido por 35 ciclos de a 94°C por 1 min, 59°C por 1 min, seguido por 72° por un min y por último un ciclo a 72° durante 10 min. Posteriormente se realizó electroforesis a cada una de las muestras de ADN, para estimar la presencia o ausencia de *B. dendrobatidis* (Kriger *et al.*, 2006a,b; Hyatt *et al.*, 2007).

Análisis estadísticos. Se registró una base de datos, en la cual se incluyó el número de muestra, las variables ambientales, como: temperatura corporal, temperatura del sustrato, temperatura del ambiente, precipitación, humedad relativa y Longitud H-CL. Todos estos agrupados de acuerdo con el intervalo de elevación correspondiente (500 a 2000 msnm).

A los datos se les aplicó un análisis de Rho de Spearman con el paquete estadístico SPSS para determinar el nivel de asociación entre la prevalencia y los factores ambientales: temperatura corporal, temperatura del sustrato y la del ambiente, Longitud H-CL, Precipitación y humedad relativa.

Resultados y discusión

La causa de la disminución o desaparición de especies sensibles se debe a la alteración de las condiciones ambientales que impactan las interacciones bióticas (Langerhans y Kern, 2020). En los contextos terrestres, Cohen *et al.* (2018) mencionan que la pérdida y/o modificación del hábitat se citan como factores dominantes en la pérdida de especies; por otro lado, los ecosistemas acuáticos, son igual o más susceptibles a las consecuencias de la fragmentación (Young *et al.*, 2016). Por tal razón fue importante determinar si las variables ambientales, la historia de vida e identidad taxonómica de diferentes especies de anfibios en el bosque mesófilo de montaña de la Sierra de Atoyac, Guerrero, predisponen un mayor riesgo para la infección por *B.*

dendrobatidis y por consiguiente ver reducidas sus poblaciones.

La estructura del paisaje y diversidad del hábitat se relacionan con la diversidad de las especies (Hendrickx, *et al.*, 2007; Brem y Lips, 2008), la fauna de agua dulce es particularmente vulnerable al cambio climático, pues su capacidad para rastrear espacialmente los cambios climáticos es muy limitada (Hassall y Thompson, 2008); los ecosistemas se vuelven menos diversos y la vida silvestre es menos abundante (Young *et al.*, 2016). Por lo anterior, se requiere de datos biológicos de diferentes taxones, ecorregiones y tipos de hábitat; es por ello que se establecieron tres tipos de ambientes: acuático lentic, terrestre y, acuático lotico, debido a las características fisiológicas de cada especie, con el supuesto de que el tipo de ambiente está relacionado con el número de individuos positivos a *B. dendrobatidis* (Garner *et al.*, 2006).

Con un esfuerzo de 512 h/hombre se colectaron en 15 sitios de muestreo, 300 individuos de anfibios, durante dos periodos de abril de 2017 y diciembre de 2018, de estos anfibios se tomaron 300 muestras de piel, solo 11 individuos resultaron positivos a quitriomicosis y 289 individuos negativos a la enfermedad a lo largo de un gradiente altitudinal (Brem y Lips, 2008), la concentración varió de 0 a 128 equivalentes genómicos (e.g. 12.3; Tabla 2).

De 300 especímenes colectados, se registraron 132 individuos encontrados en ambiente lentic, de ellos, solo ocho resultaron positivos a *B. dendrobatidis*, por lo tanto, a este tipo de ambiente correspondió el mayor número de organismos infectados, seguido por el ambiente lotico, con dos individuos, y por último el ambiente terrestre con un individuo positivo a *B. dendrobatidis* de los cuatro colectados. Este suceso se asocia con la biología del hongo, el cual libera sus zoosporas en el agua para su desarrollo y crecimiento (Davidson, *et al.*, 2003; Brem y Lips, 2008); de tal modo, las especies con mayor vulnerabilidad de infestación son las que tienen su desarrollo en contacto con hábitos acuáticos (Tabla 3).

Para evaluar la interrelación de las variables, los resultados se analizaron con Rho de Spearman,

Tabla 2. Especies de anfibios positivos a quitriomicosis en intervalos altitudinales de 506 a 1560 msnm.

Especie	Temperatura Corporal °C	Temperatura Sustrato °C	Humedad %	Longitud H-CL	Temperatura Ambiental °C	Elevación msnm
<i>E. sumichrasti</i>	21.2	20.8	33.7	2.6	27.4	506
<i>Plectrohyla sp.</i>	21.2	21.1	31.9	6.0	27.7	518
<i>E. sumichrasti</i>	22.8	22.6	36.7	2.3	26.7	567
<i>P. leonhardschultzei</i>	19.3	19.1	40.1	2.3	26.9	612
<i>T. smithii</i>	18.9	19.3	40.5	2.1	25.6	641
<i>P. leonhardschultzei</i>	19.4	19.2	40.6	2.5	26.7	703
<i>R. sierramadrensis</i>	19.2	19.1	21.8	3.6	23.1	1000
<i>E. sumichrasti</i>	15.8	12.6	22.3	2.1	26.2	1023
<i>R. sierramadrensis</i>	19.4	19	22.4	3.5	25.6	1280
<i>C. augusti</i>	20.3	20	22.4	2.1	23.5	1292
<i>E. juanita</i>	12.3	11.9	20.9	2.3	24.1	1560

Tabla 3. Especies de anfibios infectados por quitriomicosis y su tipo de ambiente encontrados en los sitios de muestreos.

Tipo de ambiente	Especie	Abundancia	Modo reproductivo	Resultados
Acuático lentic	<i>P. leonhardschultzei</i>	15/2		Positivo
	<i>E. juanita</i>	42/1	I. Huevos y renacuajos en estanques de agua temporales	Positivo
	<i>E. sumichrasti</i>	39/3		Positivo
	<i>S.bistincta</i>	4/1		Positivo
	<i>T. smithii</i>	32/1		Positivo
Terrestre	<i>C. augusti</i>	4/1		Positivo
Acuático lotico	<i>L. sierramadrensis</i>	17/2	IV. Acuáticas que nadan libremente	Positivo

Tabla 4. Análisis de Rho de Spearman, se muestran tres valores para cada cruce de variables: 1) el valor de coeficiente de correlación (negritas); 2) el nivel crítico asociado a cada coeficiente (sig.), y 3) el número de casos sobre el que se ha calculado cada coeficiente.

Variable	Cuantificación	Variable	Cuantificación	Variable	Cuantificación
Temperatura corporal	0.086	Intervalo de elevación	0.027	Humedad	0.0006
Correlación coeficiente	300	Correlación coeficiente	300	Correlación coeficiente	300
Sig. (bilateral)		Sig. (bilateral)		Sig. (bilateral)	
N		N		N	
Temperatura sustrato	0.077	Longitud Hocico-Cloaca	-0.114	Temperatura ambiente	0.0009
Correlación coeficiente	300	Correlación coeficiente	300	Correlación coeficiente	300
Sig. (bilateral)		Sig. (bilateral)		Sig. (bilateral)	
N		N		N	

esto mostró una baja relación positiva con la presencia de *B. dendrobatidis* entre la temperatura (T) corporal (0.086), T sustrato (0.077), humedad (0.0006) y, una relación negativa baja con respecto al Log. H-C (-0.114) (Tabla 4).

Además, con las temperaturas asociadas con las muestras positivas a *B. dendrobatidis* en cada intervalo de elevación, se demuestra que las temperaturas óptimas para el crecimiento y desarrollo del hongo en el área estudiada, se establecen entre los 24° y 26° C, en una altitud de 500-1000 msnm, lo que tiene relación con el mayor número de registros positivos de quitridiomycosis (Garner *et al.*, 2006). Así mismo, en las temperaturas promedio que oscilan entre los 20° y 22° C en el intervalo de 1000-1500 msnm, el hongo puede establecerse, pero no logra desarrollo, por lo que las especies de anfibios tienen menor susceptibilidad de adquirir la enfermedad.

Es por ello, como mencionan Kriger y Hero, (2007) que no logra desarrollarse el hongo a temperaturas bajas, desde los 18°C que son temperaturas que por lo general se presentan en el intervalo de elevación de los 1500-2000 msnm,

donde solo se encontró una especie de rana infectada por *B. dendrobatidis*. En este sentido, se comprende que anfibios infectados con distribución en el gradiente altitudinal, las características compartidas son el hábitat en sitios de bosque mesófilo con temperaturas que oscilan entre los 24° y 26°C y humedad superior del 80%, con un grado mayor para *B. dendrobatidis*, donde las especies con desarrollo larvario de vida libre tienen mayor probabilidad de infectarse en comparación con las del desarrollo directo.

Lo anterior es respaldado por estudios donde dichas características se asocian con la infección por *B. dendrobatidis*, lo que genera potencialmente declinaciones poblacionales de diferentes especies de anfibios (Berger *et al.*, 1998, 2005a). La interacción entre el grado de infección de *B. dendrobatidis* y el desarrollo larval como estimador en la infección integran los requisitos ambientales del patógeno con la susceptibilidad natural de los anfibios. Por otra parte, las larvas acuáticas de vida libre pueden transmitir las zoosporas entre sí, como a individuos post metamórficos (Berger *et al.*, 1998). Dichas larvas pueden ser clínicamente saludables, mientras que

los adultos pueden morir, lo cual sugiere que el desarrollo de vida libre, además de ser reservorio, también estaría propiciando la persistencia de *B. dendrobatidis* en el ambiente (Kriger *et al* 2006a, b).

Por su parte, en especies de desarrollo directo, la transmisión de zoosporas de *B. dendrobatidis* no implicaría riesgo de contagio en etapas larvales y su transmisión podría relacionarse con otro mecanismo, como lo son las variables ambientales, temperaturas extremas y sequías, que no favorecen la presencia y desarrollo de la enfermedad, de modo que el estado actual del flujo climático propicia impactos de las variaciones de temperatura en la biota del mundo (Kriger y Hero, 2007).

Cabe considerar que el uso de enfoques basados en rasgos de los anfibios y su entorno han permitido identificar especies susceptibles a *B. dendrobatidis*, e incluso su resistencia o tolerancia (Lips *et al.*, 2003). Por lo tanto, en los sitios seleccionados para el muestreo, se presentan condiciones ambientales idóneas para la presencia del patógeno, debido a que las temperaturas intermedias y la humedad, en teoría permiten su desarrollo y al mismo tiempo su transmisión, la cual dependerá de cómo dichos cambios afecte el ensamble de especies locales.

En efecto, la infección permaneció sin cambio a lo largo de todo el año, se sabe que, en los sitios de muestreo las condiciones de temperatura ambiental y del sustrato, así como la humedad no permanecen estables a lo largo del año (Kriger y Hero, 2007); por lo tanto, es de suma importancia establecer, si alguna condición física en ambiente condiciona de alguna forma la infección en los organismos. En este aspecto, no se tiene conocimiento de que algún trabajo divida al clima en factores ambientales, e intente relacionar a alguno de ellos con la infección por *B. dendrobatidis*, en razón de que la mayoría solo la relacionan con el clima en su totalidad (Berger *et al.*, 1998; 2005a,b; Kriger y Hero, 2007).

De acuerdo con el análisis Rho de Spearman, ninguna de las variables físicas resultó fuertemente relacionada con la concentración de esporas, por lo que no existe relación en cuanto a la temperatura ambiental, esta nula relación es similar con un estudio realizado a una especie de

rana (*Mixophyes fasciolatus*) en donde las temperaturas menores a 24°C se relacionan con la muerte de los organismos y el grado de infección en condiciones de cautiverio (Berger *et al.*, 2005a,b; Frías-Álvarez *et al.*, 2008).

Las consecuencias de una barrera determinada de acuerdo con Langerhans y Kern (2020), pueden ser difíciles de predecir, tomando en cuenta que especies estrechamente relacionadas pueden responder de manera diferente a la misma barrera, como lo registra con los anfibios Frías-Álvarez *et al.*, (2008). En este sentido, hay evidencia que *Atelopus zeteki* sobrevive más a 23°C que a 17°C (Berger *et al.*, 1998). De igual forma, la temperatura corporal se ve moldeada por la del sustrato, debido a que los individuos de la familia Hylidae se comportan de una forma críptica en sus ambientes, es decir permanecen debajo de hojarasca y en troncos podridos. Ambas temperaturas en estos ambientes no tienen relación con respecto de la concentración de zoosporas, debido a que con estos factores no se tiene conocimiento de algún trabajo que los relacione; según Harris *et al.* (2006) mencionan que el desarrollo de *B. dendrobatidis*, es inhibido por bacterias cutáneas en algunos anfibios.

Si bien es cierto que la fragmentación del ecosistema puede conllevar una gran cantidad de impactos ambientales adicionales (Langerhans y Kern, 2020), dando lugar a poblaciones más pequeñas y aisladas (Pietrowsky *et al.*, 2004), es por ello que no se puede profundizar más con los resultados obtenidos hasta ahora, sin embargo, consideramos que es muy probable que el comportamiento y el contraste con las variables tendría que ser similar a la temperatura ambiental. La inclusión de los actores sociales asentados en las diferentes comunidades del área de estudio permitirá su participación en el desarrollo de futuras investigaciones, mediante el método de investigación-acción, basado en un paradigma sociocrítico para generar un cambio en la conservación de los recursos naturales, a partir del interés propio de los participantes dentro de un contexto de educación ambiental crítica (Díaz-Ruiz, *et al.*, 2022) para concretar las relaciones sociales como sugieren Foladori y Tommasino (2012) en un motor de la investigación científica. Por su parte, Gómez-Márquez (2023) menciona

que la importancia de conservar la biodiversidad y preservar los ecosistemas naturales es esencial, porque, además de mantener la riqueza biológica de nuestro planeta, rara vez sabemos qué especies son críticas para el funcionamiento actual o proporcionan resiliencia y resistencia a los cambios ambientales en los ecosistemas, como es el caso, en este estudio, con la interrelación patógeno-hospedero, del que hay largo camino por recorrer para establecer su contribución a la homeostasia del ecosistema estudiado (Pounds *et al.*, 1997).

Conclusiones

Los cambios de la densidad de las poblaciones dan como resultado una mayor o menor competencia, esto depende de la calidad del hábitat y la abundancia de los recursos. La situación actual del hongo *B. dendrobatidis*, afecta en un 3.6% a la riqueza de especies de anfibios, lo que impacta en la distribución y prevalencia de la quitridiomycosis en anfibios en el bosque mesófilo de montaña; este ecosistema es vulnerable a cambios bruscos de temperatura y prioritaria para la conservación en el estado de Guerrero. Se ha generado una línea base de datos sobre *B. dendrobatidis* en la estructura y composición de los ensamblajes de anfibios asociados a diferentes tipos de vegetación asociados al bosque mesófilo de montaña e intervalos altitudinales; ello permitirá a mediano y largo plazo dilucidar a través de estudios moleculares, aspectos genéticos, biológicos y ecológicos, el efecto de las alteraciones en la fragmentación del hábitat en la interrelación parásito-hospedero y el diseño de estrategias para la conservación de este recurso natural. Considerar los factores externos como la escala de tiempo de la fragmentación, historia de vida, capacidad de dispersión, pequeñas cantidades de flujo de genes que influyen en la evolución de las poblaciones en sitios fragmentados, son algunos aspectos por seguir estudiando. La participación social de las localidades en regiones con amplia trascendencia biológica, como en el caso del área de estudio, por sus valores éticos en preservar los recursos naturales es importante para la conservación. Evaluar la afectación potencial de

los ecosistemas que se encuentran en una situación de vulnerabilidad y en interacción con distintos tipos de peligros naturales o derivados de las actividades del hombre, afectan, de una u otra forma, los distintos satisfactores asociados al bienestar socioambiental.

Referencias

- Annis, S.L., Dastoor, F.P., Ziel, H., Daszak, P., and Longcore, J.E. (2004). A DNA-based assay identifies *Batrachochytrium dendrobatidis* in amphibians. *Journal of Wildlife Diseases*, 40, 420–428.
- Berger, L., Speare, R., Daszak, P., Green, D.E., Cunningham, A.A., Goggin, C.L., Slocumbe, R., Ragan, M.A., Hyatt, A.D., McDonald, K.R., Hines, H.B., Lips, K.R., Marantelli, G., Parkes, H. (1998). Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rainforests of Australia and Central America. *Proceedings of the National Academy of Science of USA*, 95, 9031-9036.
- Berger, L., Hyatt, A.D., Olsen, V., Hengstberger, S.G., Boyle, D., Marantelli, G., Humphreys, K., Longcore, J.E. (2002). Production of polyclonal antibodies to *Batrachochytrium dendrobatidis* and their use in an immunoperoxidase test for chytridiomycosis in amphibians. *Diseases of Aquatic Organisms*, 48, 213-220.
- Berger, L., Hyatt, A.D., Speare, R., Longcore, J.E. (2005a). Life Cycle of the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 68, 51-63.
- Berger, L., Marantelli, G., Skerratt, L.F., Speare, R. (2005b). Virulence of the amphibian chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* varies with the strain. *Diseases of Aquatic Organisms*, 68, 47-50.
- Boyle, D.G., Boyle, D.B., Olsen, V., Morgan, J.A.T., Hyatt, A.D. (2004). Rapid quantitative detection of chytridiomycosis (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in amphibian samples using real-time Taqman PCR assay. *Diseases of Aquatic Organisms*, 60, 141-148.
- Brem, F.M., Lips, K.R. (2008). *Batrachochytrium dendrobatidis* infection patterns among Panamanian amphibian species, habitats, and

- elevations during epizootic and enzootic. *Diseases of Aquatic Organisms*, 81, 189-202.
- Cohen, J.M., Lajeunesse, M.J., Rohr, J.R. (2018). A global synthesis of animal phenological responses to climate change. *Nature Climate Change*, 8, 224-228.
- Davidson, E.W., Parris, M., Collins, J.P., Longore, J.E., Pessier, A.P., Brunner, J. (2003). Pathogenicity and Transmission of Chytridiomycosis in Tiger Salamanders (*Ambystoma tigrinum*). *Copeia*, 3, 601-607.
- Díaz-Ruiz, M., Giraldo-Gomez, Y.V., Molina, M.C. (2022). Formación en Educación Ambiental Crítica en una comunidad de aprendizaje de docentes. *Revista de educación ambiental y sostenibilidad* 4, 1302-1320.
- Drew, A., Allen, E.J., Allen, L.J.S. (2006). Analysis of climatic and geographic factors affecting the presence of chytridiomycosis in Australia. *Diseases of Aquatic Organisms*, 68, 245-250.
- Frías-Álvarez, P., Vredenburg, V.T., Familiar-López, M., Longcore, J.E., González-Bernal, E., Santos-Barrera, G. et al. (2008). Chytridiomycosis survey in wild and captive Mexican amphibians. *EcoHealth*, 5, 18-26.
- Foladori, G., Tommasino, H. (2012). La solución técnica a los problemas ambientales. *R. Katál., Florianópolis*, 15, 79-83.
- Garner, T.W.J., Perkins, M.W., Govindarajulu, P., Seglie, D., Walker, S., Cunningham, A.A., Fisher, M.C. (2006). The emerging pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* globally infects introduced populations of the North American bull frog, *Rana catesbeiana*. *Biology Letters*, 2, 455-459.
- Gómez-Márquez, J. (2023). A new definition and three categories for classifying ecosystems. *Academia Biology*, 1-9.
doi.org/10.20935/AcadBiol6072
- Harris, R.N., Timothy, Y., Lauer, J., Mary Alice Simon MA, Patel, A. (2006). Amphibian Pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* Is Inhibited by the Cutaneous Bacteria of Amphibian Species. *EcoHealth* 3, 53-56.
- Hassall, C., Thompson, D.J. (2008). The effects of environmental warming on Odonata: a review. *International Journal of Odonatology*, 11, 131-153.
- Hendrickx, F., Maelfait, J-P., Van Wingerden, W., Schweiger, O., Speelmans, M., Aviron, S., Augenstein, I., et al. (2007). How landscape structure, land-use intensity and habitat diversity affect components of total arthropod diversity in agricultural landscapes. *Journal of Applied Ecology* 2007 44, 340-351.
- Hyatt, A.D., Boyle, D.G., Olsen, V., Boyle, D.B., Berger, L., Obendorf, D., Dalton, A., Kriger, K., Hero, M., Hines, H., Phillott, R., Campbell, R., Marantelli, G., Gleason, F., Colling, A. (2007). Diagnostic assays and sampling protocols for the detection of *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 73, 175-192.
- Johnson, M.L., Speare, R. (2005). Possible modes of dissemination of the amphibian chytridio *Batrachochytrium dendrobatidis* in the environment. *Diseases of Aquatic Organisms*, 65, 181-186.
- Kruger, K.M., Hero, J.M. (2007). The chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* is non-randomly distributed across amphibian breeding habitats. *Diversity and Distributions*, 13, 781-788.
- Kruger, K.M., Hines, H.B., Hyatt, A.D., Boyle, D.G., Hero, J.M. (2006a). Techniques for detecting chytridiomycosis in wild frogs: comparing histology with real-time Taqman PCR. *Diseases of Aquatic Organisms*, 71, 141-148.
- Kruger, K.M., Hero, J.M., Ashton, K.J. (2006b). Cost-efficiency in the detection of chytridiomycosis using PCR assay. *Diseases of Aquatic Organisms*, 71, 149-154.
- Langerhans, R.B., Kern, E.M.A. (2020). Urbanization and evolution in aquatic environments. In M. Szulkin, J. Munshi-South, A. Charmantier (Eds). *Urban evolutionary biology*. Oxford, University Press, 157-174.
<https://doi.org/10.1093/oso/9780198836841.003.0010>
- Lips, K.R., Green, D.E., Papendick, R. (2003). Chytridiomycosis in wild frogs from Southern Costa Rica. *Journal of Herpetology*, 37, 215-218.
- Lips, K.R., Mendelson III, J.R., Muñoz-Alonso, A., Canseco-Márquez, L., Mulcahy, D.G. (2004). Amphibian population declines in montane Southern Mexico: resurveys of

- historical localities. *Biological Conservation*, 119, 555-564.
- Luja, V.H., Rodríguez-Estrella, R., Ratzlaff, K., Parra-Olea, G., Ramírez-Bautista, A. (2012). The chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* in isolated populations of the Baja California tree Frog *Pseudacris hypochondriaca* curta in Baja California Sur, Mexico. *The Southwestern Naturalist*, 57, 323-327.
- Olsen, V, Hyatt, A.D., Boyle, D.G., Mendez, D. (2004). Co-localisation of *Batrachochytrium dendrobatidis* and keratin for enhanced diagnosis of chytridiomycosis in frogs. *Diseases of Aquatic Organisms*, 61, 85-88.
- Parra-Olea, G., García-Paris, M., Wake, D.B. (1999). Status of some populations of Mexican salamanders (Amphibia: Plethodontidae). *Revista de Biología Tropical*, 47, 217-223.
- Piotrowski, J.F., Annis, S.L., Longore, J.E. (2004). Physiology of *Batrachochytrium dendrobatidis*, a chytrid pathogen of amphibians. *Mycologia*, 96, 9-15.
- Pounds, J.A., Fogden, M.P.L., Savage, J.M., Gorman, G.C. (1997). Tests of null models for amphibian declines on a tropical mountain. *Conservation Biology*, 11, 1307-1322. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1997.95485.x>
- Young, H.S., McCauley, D.J., Galetti, M., Dirzo, R. (2016). Patterns, Causes, and Consequences of Anthropocene Defaunation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 47, 333-358.