

PRIMER REGISTRO DE INFECCIÓN POR *BATRACHOCHYTRIUM DENDROBATIDIS* Y POR EL NEMATODO DEL GÉNERO *CAPILLARIA* Y LA AUSENCIA DE INFECCIÓN POR *RIBEIROIA ONDATRAE* EN *AMBYSTOMA ORDINARIUM*

FIRST RECORD OF INFECTION BY *BATRACHOCHYTRIUM DENDROBATIDIS* AND BY THE NEMATODE OF THE GENUS *CAPILLARIA* AND THE ABSENCE OF INFECTION BY *RIBEIROIA ONDATRAE* IN *AMBYSTOMA ORDINARIUM*

Cinthy Mendoza-Almeralla¹, David Tafolla-Venegas², Carolina González-Pardo¹ & Ileri Suazo-Ortuño^{1*}

¹Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Av. San Juanito Itzcuaró s/n, Col. Nueva Esperanza, Morelia, Michoacán, México.

²Laboratorio de Parasitología. Facultad de Biología-Edificio R. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Ciudad Universitaria. Morelia, Michoacán, México.

*Correspondence: ileri.suazo@gmail.com

Received: 2023-01-11. Accepted: 2023-09-22. Published: 2023-10-09.

Editor: Rosario Mata López, México.

Abstract.— Chytridiomycosis caused by *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) and trematodiasis originate from *Ribeiroia ondatrae* are factors causing the decline of amphibians. To assess the coexistence of *Bd* and this trematode in México, we conducted two visits to 20 streams in the Trans-Mexican Volcanic Belt in Michoacán, obtaining skin swabs from 43 individuals of *Ambystoma ordinarium* for molecular detection of *Bd*. Additionally, we collected 100 gastropods of the genus *Lymnaea* to evaluate the presence of *R. ondatrae* in the caudate's habitats. The results of *Bd* detection indicated that 37 salamanders from nine sites showed infection by *Bd* in levels ranging from 21 to 4,318 genomic equivalent zoospores. However, the analysis of tissue samples from the gastropods did not reveal any infection by *R. ondatrae*. This study presents the first record of infection by nematodes of genus *Capillaria* in this salamander.

Keywords.— Achoque of Michoacán, decline, endoparasites, infection.

Resumen.— La quitridiomycosis causada por *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) y la trematodiasis originada por *Ribeiroia ondatrae* son factores del declive de anfibios. Con la intención de verificar si *Bd* y *R. ondatrae* coexisten en México, realizamos dos visitas a 20 arroyos en la porción de la Faja Volcánica Transmexicana del estado de Michoacán, obteniendo frotis de piel de 43 individuos de *Ambystoma ordinarium* para realizar la detección molecular de *Bd*. Adicionalmente, colectamos 100 gasterópodos del género *Lymnaea* para evaluar la presencia de *R. ondatrae* en los hábitats del caudado. Treinta y siete salamandras en nueve sitios presentaron niveles de infección por *Bd* de entre 21 y 4,318 zoosporas equivalentes genómicas; mientras que la revisión de tejidos de los gasterópodos no mostró infección por *R. ondatrae*. También reportamos la presencia de nematodos del género *Capillaria* en un individuo de *A. ordinarium*.

Palabras clave.— Achoque de Michoacán, declive, endoparásitos, infección.

La marcada pérdida de especies y poblaciones de anfibios constituye un tema de preocupación importante para la conservación de la biodiversidad global. Las principales causas del declive y extinción de los anfibios incluyen la pérdida y fragmentación de hábitats, enfermedades infecciosas como la quitridiomycosis y la sinergia entre éstos y otros factores (AmphibiaWeb, 2023; Young et al., 2004; Wake & Vredenburg, 2008). Cifras recientes indican el declive de un tercio del total de las especies de anfibios (AmphibiaWeb, 2021).

La quitridiomycosis es una enfermedad infecciosa y emergente en anfibios provocada por los hongos quitridios *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) y *Batrachochytrium salamandrivorans* (*Bsal*) (Longore et al., 1999; Martel et al., 2013). Hasta el momento se ha detectado a *Bd* en más de 500 especies de anfibios distribuidas en los cinco continentes, excepto la Antártida, y ha provocado el declive de más de 200 poblaciones y la extinción de 90 especies (Fisher et al., 2009; Olson et al., 2013; Sheele et al., 2019); mientras que *Bsal* se ha registrado en más de diez especies de caudados y

en algunas especies de ranas de Asia y Europa, y aun no se han documentado declives provocados por este patógeno en otros continentes (Martel et al., 2013, 2014; Spitzen-Van der Sluijs et al., 2016; Laking et al., 2017; Allain & Duffus, 2019).

En América se ha detectado a *Bd* en más de 46 caudados (Olson et al., 2013; Global *Bd* mapping project, 2019). Las familias de salamandras con mayor número de registros de especies infectadas con *Bd* son Plethodontidae (27) y Ambystomatidae (13) seguidas de Salamandridae (3) Cryptobranchidae (2) y Sirenidae (1) (Olson et al., 2013; Global *Bd* mapping project, 2019). Particularmente, el género *Ambystoma* (Ambystomatidae) comprende 33 especies distribuidas en Norteamérica (Frost, 2019). En México se ha reportado la infección en poblaciones silvestres de *A. altamirani*, *A. lermaense* (antes *A. granulatum*), *A. mexicanum*, *A. rivulare*, *A. velasci*, *A. flavipiperatum* y *A. andersoni* en los estados de México, Michoacán, Jalisco y Puebla (Frias et al., 2008; Basanta et al., 2019). Sin embargo, no se ha evaluado la presencia de *Bd* en siete especies mexicanas, incluyendo a *A. ordinarium* (AmphibiaWeb, 2023; Ramírez-Bautista et al., 2023). Debido a lo anterior, es importante monitorear y cuantificar la infección por *Bd* en las especies de *Ambystoma* en México, ya que la mayoría de estas salamandras presentan algún grado de amenaza (IUCN, 2023), y la quitridiomycosis podría ser un factor adicional para el declive de las poblaciones de estas especies.

En cuanto a los parásitos, se han estudiado desde una perspectiva tanto evolutiva como ecológica en los anfibios (Bower, 2019). Por ejemplo, los estudios filogenéticos y comparativos de patrones de infección en diferentes especies de anfibios ayudan a entender la evolución de los parásitos y su relación con los hospederos (Johnson, 2012). Por otro lado, el estudio de la dinámica de la infección en poblaciones de anfibios puede revelar cómo la interacción huésped-parásito afecta la supervivencia, el crecimiento y la reproducción de las especies de anfibios (Koprivnikar et al., 2012; Poulin, 2014). Además, es posible investigar cómo la interacción entre múltiples especies de parásitos puede afectar las poblaciones de anfibios y la biodiversidad en general (Koprivnikar et al., 2012; Poulin, 2014).

En el caso de México, la relación huésped-parásito se ha documentado en algunos anfibios (Cabrera-Guzmán et al., 2021). En el caso de *Ambystoma* se ha confirmado la infección de varias especies de parásitos trematodos y nematodos en poblaciones silvestres de *A. ordinarium*, *A. lermaense* y *A. dumerillii* (García-Altamirano et al., 1993; Mata-López et al., 2002; Ramírez-Hernández et al., 2019). Particularmente en *A. ordinarium* se han encontrado una especie de protozoario del género *Trichodina*, dos especies de trematodos de los géneros

Gorgoderina y *Ochetosoma* y dos especies de nematodos de los géneros *Cosmocercoides* y *Hedruris* (Ramírez-Hernández et al., 2019). Adicionalmente, Soto-Rojas et al. (2017) reportaron que en 16 arroyos ubicados en el centro norte del estado de Michoacán, México, el 44.62% de los individuos de *A. ordinarium* colectados en el 2014 presentaron las malformaciones de micromelia (miembros cortos), ectrodactilia (ausencia parcial o total de dígitos), braquidactilia (desproporción en el tamaño de dedos), sindactilia (fusión de dígitos), polimelia (múltiples miembros), polidactilia (dígitos súper numerarios) y ectromelia (ausencia parcial o total de miembros), las cuales son malformaciones ocasionadas por el trematodo *R. ondatrae*.

Ambystoma ordinarium presenta una distribución restringida en México, ya que solo se distribuye en el estado de Michoacán y en una localidad del estado de México (Piñon-Flores et al., 2021). Esta especie se considera en peligro a nivel global (IUCN, 2020) y está protegida por el gobierno de México (SEMARNAT, 2010). Por consiguiente, consideramos importante evaluar la posible presencia de *Bd* en esta especie y determinar si la quitridiomycosis y otros parásitos podrían ser un factor para su declive. Por lo tanto, este estudio tuvo los siguientes objetivos: 1) evaluar la presencia de *Bd* y de *R. ondatrae* en *A. ordinarium*, y 2) evaluar la presencia de endoparásitos no registrados anteriormente en esta especie.

Para la realización de estos objetivos seleccionamos 20 arroyos (Tabla 1, Fig. 1) dentro del rango de distribución actual de *A. ordinarium* (Oropeza-Sánchez et al., 2021; Piñon-Flores et al., 2021). Cada arroyo seleccionado se encuentra a una distancia mínima de 3 km con respecto a cualquier otro, por lo que corresponden a 20 poblaciones independientes de acuerdo a la poca vagilidad de la especie reportada por Montes-Calderón et al. (2011). La selección de los 20 sitios se realizó en base a la presencia y abundancia de *A. ordinarium* reportada en Montes-Calderón et al. (2011), Soto Rojas (2017) y por I. Suazo-Ortuño (*com.pers*).

Llevamos a cabo dos visitas a los 20 sitios en el 2019, durante las cuales realizamos un transecto de 800 m. de longitud en la sección media de cada una de las corrientes para efectuar la colecta de *A. ordinarium* con red de mano en el fondo de la corriente, este método de búsqueda se hizo de acuerdo a los trabajos de Oropeza-Sánchez et al. (2021) y Piñon-Flores et al. (2021). Al momento de la captura, tomamos a cada ejemplar con guantes de látex y realizamos un frotis de la piel de acuerdo a Chytrid Swabbing Protocol (2009) con un hisopo estéril (Medical wire 113w). Cada hisopo fue introducido en un vial estéril de 2 ml. Medimos a cada organismo con un vernier electrónico (20

Table 1. Study sites in the distribution of *Ambystoma ordinarium*. The table shows the number, name, type of vegetation and geolocation of the study sites, the number of individuals collected from *A. ordinarium* and the gastropods of the genus *Lymnaea* in each locality, and the prevalence and load infection by *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) in genomic zoospore equivalents (EZG's). The abbreviation NA means Not Applicable.

Tabla 1. Localidades de estudio y de distribución de *Ambystoma ordinarium*. La tabla presenta: el número, nombre, tipo de vegetación y geolocalización de los sitios de estudio, el número de individuos colectados de *A. ordinarium* y de los gasterópodos del género *Lymnaea* en cada localidad, y la prevalencia y grado de infección por *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) en equivalentes zoosporas genómicas (EZG's). La abreviatura NA significa no aplica.

Número de sitio (coordenada de colecta)	Nombre de la localidad, municipio de colecta	Tipo de vegetación	Número de individuos colectados de <i>A. ordinarium</i>	Número de individuos infectados por <i>Bd</i> (prevalencia)	Grado de infección en EZG's	Número de gasterópodos colectados
1. (19.36 °N, 101.3824 °W)	10.90 km al Oeste de Villa Madero, Madero	Bosque pino-encino	2	2 (100%)	177.86-666.39	0
2. (19.3455°N, 101.4168 °W)	0.73 km al NO de Yoricoctio, Tacámbaro	Bosque de pino y potrero	0	NA	NA	2
3.(19.2995°N, -01.5179°W)	El pedregoso, Tacámbaro	Potrero	0	NA	NA	11
4. (19.5201°N, 101.1360°W)	2.57 km al SO de Ichaqueo, Morelia	Bosque de pino-encino	0	NA	NA	0
5.(19.7570°N, 100.8427°W)	3.4 km al Sur de Queréndaro,	Potrero	0	NA	NA	0
6. (19.7530°N, 100.7515°W)	7.43 km al SE de Queréndaro, Queréndaro,	Potrero	0	NA	NA	0
7. (19.7622°N, 100.7984°W)	10.86 km al SE de Queréndaro, Queréndaro	Potrero y bosque de pino encino	3	3 (100%)	240.41-4160	0
8. (19.7162°N, 100.9165°W)	0.75 km al Sur de Ziróndaro, Zinapécuaro	Potrero	8	7 (87.5%)	141.38-2512.21	0
9. (19.5128°N, 101.1994°W)	3.4 km al SE de Acuitzio del canje, Acuitzio del canje	Bosque de pino	0	NA	NA	0
10.(19.4373°N, 101.3024°W)	2 km al NE de Loma caliente, Morelia	Bosque de pino-encino	0	NA	NA	0
11. (19.6848°N, 100.8753°W)	14 km al Sur de Queréndaro, Queréndaro	Bosque de pino-encino	1	1(100%)	459.62	0
12. (19.6745°N, 101.0291°W)	5.7 km al Este de Jariepo, Charo	Bosque de pino-encino	3	3(100%)	188.55-1730.42	0
13. (19.6669°N, 101.1435°W)	Rio chiquito, Morelia	Matorral subtropical	6	5 (83.3%)	264.36-2465.67	59
14. (19.6172°N, 100.7133°W)	2 km al Norte de Pucuat, Hidalgo	Bosque de pino-encino	0	NA	NA	0
15. (19.5723°N, 100.6661°W)	5.2 km al Oeste de Mata de Pinos, Hidalgo	Bosque de pino-encino	0	NA	NA	0
16. (19.6781°N, 100.6381°W)	9 km al Oeste de C.Hidalgo, Hidalgo	Potrero	0	NA	NA	0
17.(19.5191°N, 100.6166°W)	2 km al Sur de Agostitlan, Hidalgo	Bosque de pino-encino	0	NA	NA	0

Table 1 (cont.). Study sites in the distribution of *Ambystoma ordinarium*. The table shows the number, name, type of vegetation and location of the study sites, the number of individuals collected from *A. ordinarium* and the gastropods of the genus *Lymnaea* in each locality, and the prevalence and load infection by *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) in genomic zoospore equivalents (EZG's). The abbreviation NA means Not Applicable.

Tabla 1 (cont.). Localidades de estudio y de distribución de *Ambystoma ordinarium*. La tabla presenta: el número, nombre, tipo de vegetación y ubicación de los sitios de estudio, el número de individuos colectados de *A. ordinarium* y de los gasterópodos del género *Lymnaea* en cada localidad, y la prevalencia y grado de infección por *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) en equivalentes zoosporas genómicas (EZG's). La abreviatura NA significa no aplica.

Número de sitio (coordenada de colecta)	Nombre de la localidad, municipio de colecta	Tipo de vegetación	Número de individuos colectados de <i>A. ordinarium</i>	Número de individuos infectados por <i>Bd</i> (prevalencia)	Grado de infección en EZG's	Número de gasterópodos colectados
18.(19.6106°N, -101.1241°W)	Filtros viejos, Morelia	Bosque de pino-encino	14	11 (78.5%)	21.08-4318.83	28
19.(19.8412°N, -100.7319°W)	8.9 km al Oeste de Bocaneo, Zinapécuaro	Bosque de pino-encino	4	3 (75%)	112.11-1856.98	0
20.(19.5142°N, -100.7896°W)	4.43 km al SO de San Antonio Villalanguín, Hidalgo	Bosque de pino-encino	2	2 (100%)	301.01-2588	0
Total			43	37		100

mm; Vikye). Cada individuo se revisó detalladamente para observar si presentaban malformaciones externas. Finalmente, liberamos a cada salamandra en el sitio de colecta y los frotis de piel se llevaron al laboratorio de Ecología Animal del Instituto de Investigaciones Sobre los Recursos Naturales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH).

En cada uno de los veinte arroyos realizamos la búsqueda de gasterópodos utilizando un tamiz de suelo en el fondo de la corriente a lo largo de cada transecto. También exploramos la vegetación riparia adjunta a cada corriente para visualizar y coleccionar a los ejemplares. Los moluscos colectados de cada sitio se colocaron en un contenedor transparente con tapa (Uline, 500 ml) con 50 ml de agua corriente de clorada, el cual cerramos y rotulamos con los datos de fecha y sitio de colecta. Los gasterópodos colectados fueron llevados inmediatamente al laboratorio de Parasitología de la (UMSNH) para realizar la detección de *R. ondatrae* en ellos, debido a que no presentan alguna categoría de peligro.

Al final del análisis de detección de *Bd* en las salamandras y de cercarías en los gasterópodos, decidimos coleccionar un máximo de cuatro individuos de *A. ordinarium* en el arroyo con mayor abundancia de la salamandra, con elevada prevalencia de *Bd*, y con presencia de gasterópodos, para determinar si los ejemplares presentaban cercarías de *R. ondatrae* y otros endoparásitos.

Los ejemplares colectados fueron llevados inmediatamente al laboratorio de Parasitología de la (UMSNH).

Este estudio se llevó a cabo en estricta conformidad con las pautas para el uso de anfibios y reptiles vivos en investigaciones de campo compiladas por la Sociedad Estadounidense de Ictiólogos y Herpetólogos (ASIH). El manejo de las muestras se realizó con el permiso de colecta científica número SGPA/DGVS/13339/19 otorgado por la SEMARNAT.

Detección y cuantificación del patógeno *Batrachochytrium dendrobatidis*. Extrajimos el ADN de los frotis de piel mediante el protocolo PrepMan (Applied Biosystems) y realizamos la detección de *Bd* mediante la técnica de PCR en tiempo real descrita por Boyle et al. (2004). Consideramos un resultado positivo cuando se encontraron valores iguales o superiores a 0.1 zoosporas equivalentes genómicas (ZEG's) en cada muestra analizada. Posterior al registro de los datos positivos a la infección multiplicamos cada valor por el factor de dilución para obtener el total de zoosporas equivalentes genómicas (ZEG's) de cada frotis.

Análisis de detección de *Ribeiroia ondatrae*. En el laboratorio colocamos cada caracol en un vaso clínico (Medisante, 100 ml) con 50 ml de agua de clorada durante 48 horas. Posterior a esto, expusimos a los moluscos a luz directa durante doce horas para que las cercarías emergieran de los moluscos y pudieran observarse a simple vista. Después separamos las

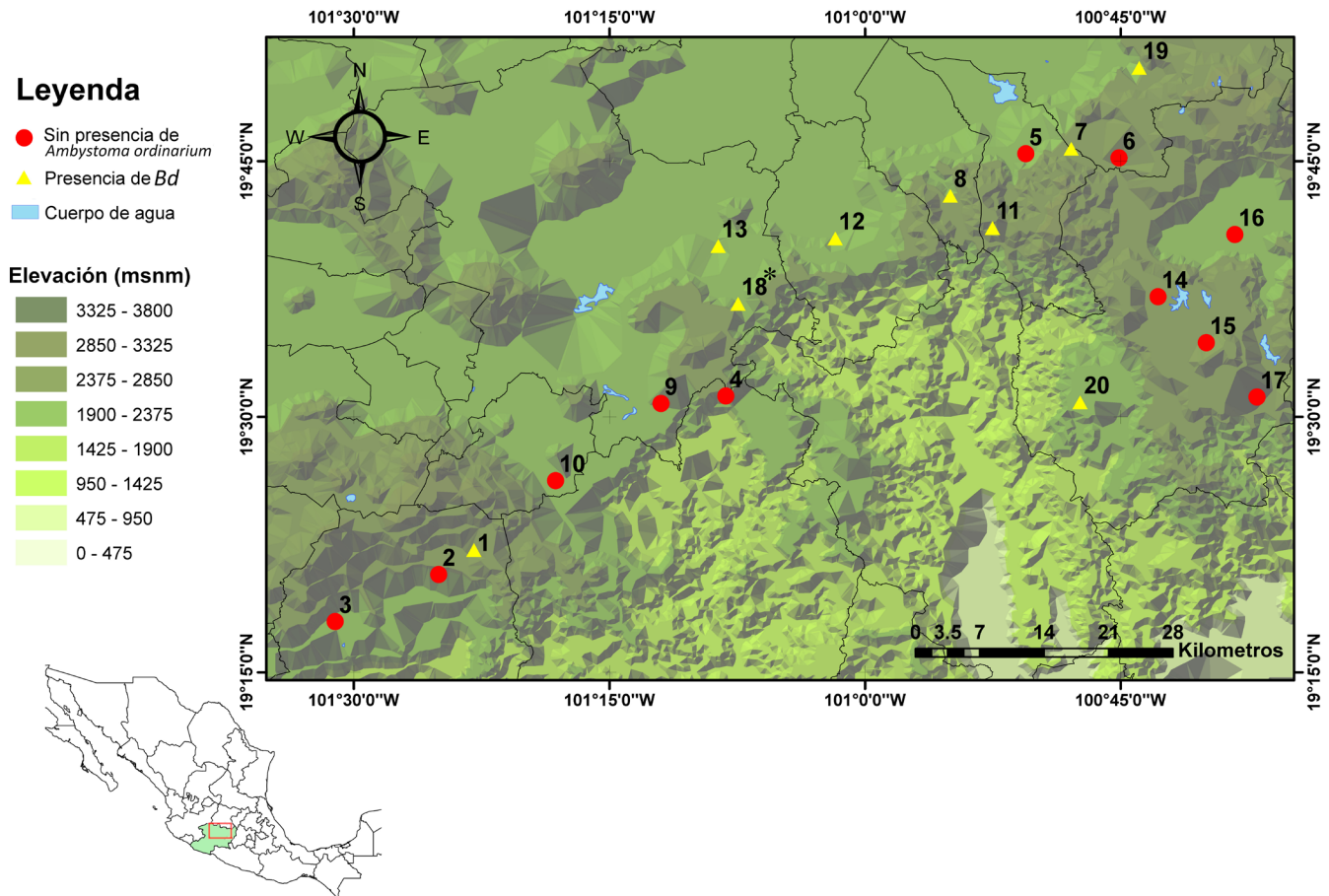


Figure 1. Map of sites with the presence of *Ambystoma ordinarium* and *Batrachochytrium dendrobatidis* in the State of Michoacán. The asterisk indicates the site with specimens infected by *Bd*, *Capillaria* sp., and *Hedruris siredonis*.

Figura 1. Mapa de los sitios de estudio con y sin presencia de *Ambystoma ordinarium* y de *Batrachochytrium dendrobatidis* en el Estado de Michoacán. El asterisco señala el sitio en el que se encontraron ejemplares infectados por *Bd*, *Capillaria* sp. y *Hedruris siredonis*.

cercañas encontradas, las fijamos en solución de Bouin durante 24 horas y las transferimos a etanol al 70 % para teñirlas con Paracarmin de Mayer. Finalmente observamos las preparaciones bajo el microscopio óptico para determinar si presentaron características de *R. ondatrae* de acuerdo a Szuroczki y Richardson (2009).

Detección de endoparásitos en *A. ordinarium*. Aplicamos eutanasia a cuatro adultos de *A. ordinarium* utilizando el protocolo de Falconi et al. (2010), en las 48 horas siguientes a su colecta. Inmediatamente después, revisamos la cavidad interna y órganos para la búsqueda de endoparásitos (Smith, 1990; Lamothe-Argumedo, 1997). Observamos nematodos, los cuales separamos del tejido, fijamos y transparentamos con una transferencia sucesiva de una mezcla caliente de etanol al 70% con glicerina al 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100%. Obtuvimos

fotografías con un microscopio Amscope modelo B120B-5M y determinamos el género al que pertenecían de acuerdo a las características reportadas en los trabajos de: Butterworth y Beverley-Burton (1980), Ramírez-Hernández et al. (2019) y Palumbo et al. (2020).

Durante las dos visitas a cada sitio, colectamos 43 individuos de *Ambystoma ordinarium* en nueve sitios (Tabla 1). Los individuos no presentaron malformaciones y exhibieron una longitud hocico cloaca (LHC) promedio de 71.70 mm (min 43-100 max). De acuerdo a las tallas de cada estadio reportadas en Anderson y Worthington (1971), colectamos 17 larvas inmaduras y 26 adultos. Se detectó a *Bd* en 37 salamandras, las cuales presentaron un grado de infección de entre 21 y 4,318 ZGE's (Tabla 1).

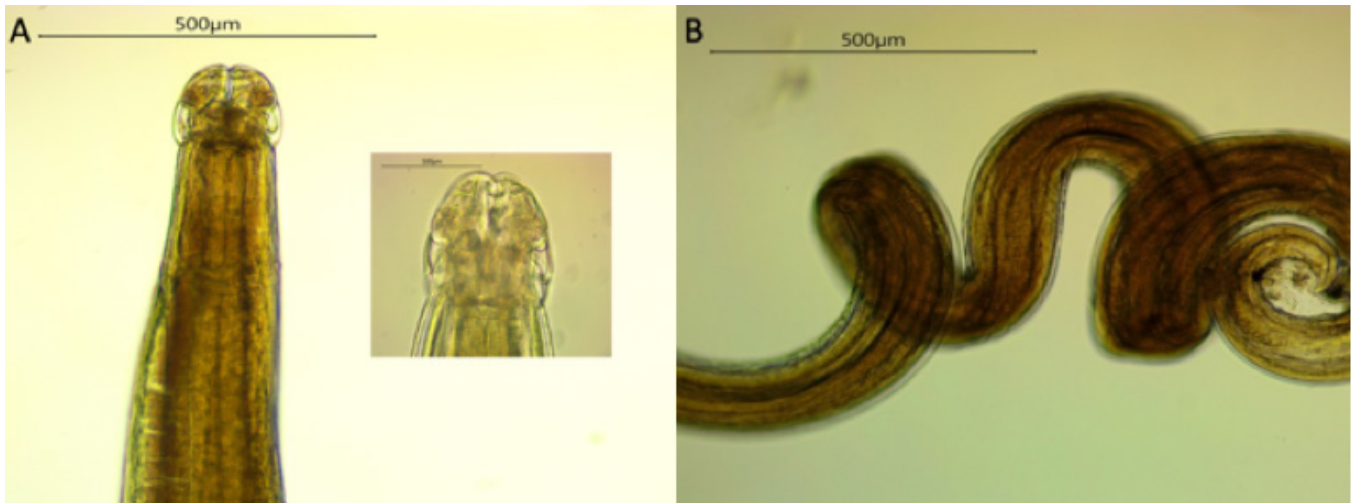


Figure 2. *Hedruris siredonis* found in *Ambystoma ordinarium*. A) Anterior section of the female, B) Posterior section of the male.

Figura 2. *Hedruris siredonis* encontrado en *Ambystoma ordinarium*. A) Sección anterior de la hembra, B) Región posterior del macho.

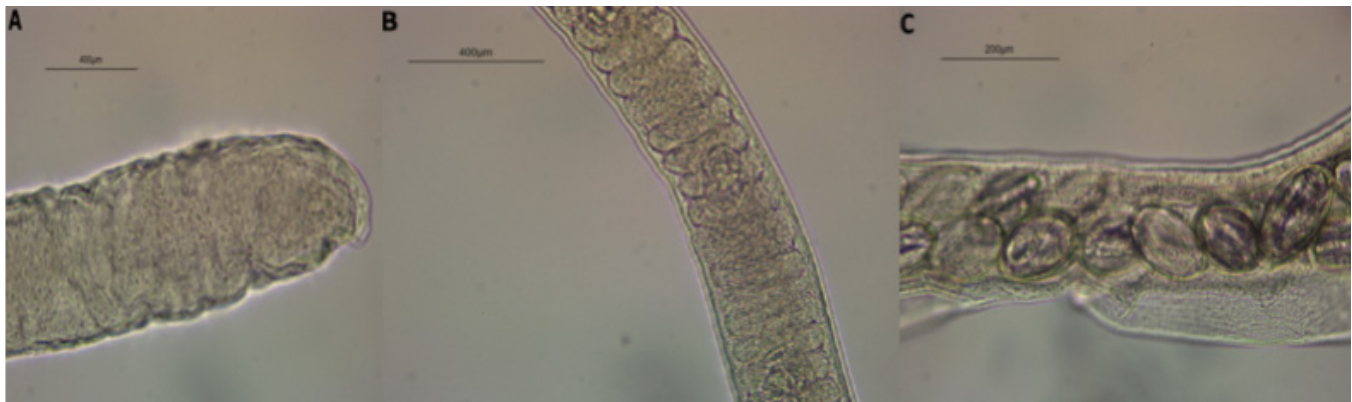


Figure 3. *Capillaria* sp. found in *Ambystoma ordinarium*. A) Posterior section, B) stichosome, C) larval eggs.

Figura 3. *Capillaria* sp. encontrado en *Ambystoma ordinarium*. A) Sección posterior, B) esticosoma, C) huevos larvados.

Obtuvimos 100 moluscos del género *Lymnaea* en cuatro de los 20 sitios (Tabla 1). Las cercarias presentes en los caracoles del género *Lymnaea* sp. no pertenecieron a *R. ondatrae*, debido a la ausencia de las características taxonómicas propias de esta especie en estado larvario, tales como esófago bifurcado y la ausencia de un cuello espinoso, coincidiendo además que los estadios larvarios en el caracol únicamente se han registrado en especies de la familia Planorbidae (Jones, 1987; Lunde & Johnson, 2012).

Los cuatro ejemplares de *A. ordinarium* colectados en la tercera visita al sitio 18, presentaron el nematodo *Hedruris siredonis* en el tracto digestivo (Fig. 2), el cual ya había sido registrado en la especie (Ramírez-Hernández et al., 2019). Las características

más destacables que permitieron determinar la especie fueron terminación cefálica con dos grandes pseudolabios, cada uno con dos papilas digitiformes y dos papilas sésiles y un anfidio, interlabios dorsales y ventrales entre los pseudolabios, cada interlabio forma una estructura cuticular trilobular. Esófago no claramente dividido en las porciones muscular y glandular. Extremidad anterior con anillos esclerotizados. Deiridios anteriores al anillo nervioso. Machos: 10 pares de papilas caudales, bolsa espicular y orificio rectal ubicados en una abertura cloacal sin separación de lóbulos cuticulares. Hembra: cubierta cuticular formando un pliegue en la parte final del cuerpo con numerosas hileras de diminutas espinas (Baker, 1985; Dyer & Brandon, 1973).

Uno de los cuatro ejemplares colectados de *A. ordinarium* también exhibió dos nematodos del género *Capillaria* en el tracto digestivo (Fig. 3). Las características que permitieron determinar el género fueron que los nematodos presentaron cuerpo filiforme, porción posterior del cuerpo ligeramente más gruesa que la porción esofágica. El esófago consta de un esófago musculoso corto seguido de una sola cadena de esticocitos anulares. Esticosoma formado por 39 esticocitos, cada uno dividido por 7-9 anulaciones transversales con una célula núcleo. Hembra monodelfica, vulva posterior a la unión del esófago y el intestino con una estructura en forma de embudo. Huevos ovalados con tapones polares, cáscara lisa (Bell y Beverley-Burton, 1981).

Este trabajo confirma la presencia de *Ambystoma ordinarium* en nueve de los 20 sitios estudiados, en todas las localidades con presencia del caudado se detectó una prevalencia elevada de *Bd*, pero la carga parasitaria fue diferente en cada sitio (entre 21 a 4,318 ZGE's). Los resultados muestran que los individuos de *A. ordinarium* presentan un amplio intervalo en el grado de infección en cada sitio, y esto puede deberse a que en los arroyos donde habitan experimentan diferentes condiciones ambientales y de perturbación, lo que puede incrementar el crecimiento de *Bd* (Ramírez-Hernández et al., 2019; Alvarado-Rybak et al., 2021). Además, los individuos de *A. ordinarium* podrían exhibir diferentes respuestas para combatir esta infección. Por ejemplo, en la familia Ambystomatidae se ha presentado muda de piel en organismos infectados por el hongo y esta respuesta ha provocado que la carga parasitaria disminuya (Davidson et al., 2003). También, se ha demostrado que muchas especies de anfibios pueden secretar péptidos antimicrobiales que tienen la capacidad de eliminar las zoosporas del quitridio de la piel (Nava-González et al., 2021). Adicionalmente, se ha sugerido que la microbiota presente en la piel podría jugar un papel importante en la inhibición del crecimiento de *Bd* (Hol et al., 2015; Longo et al., 2015).

Los gasterópodos y las salamandras examinadas no estuvieron infectados por *R. ondatrae*. Sin embargo, debido a que Soto-Rojas et al. (2017) reportaron varios individuos de *A. ordinarium* con malformaciones externas dentro de los sitios estudiados, no se puede descartar la posible existencia de otros parásitos que provoquen esas malformaciones. Adicionalmente, este trabajo reporta un nuevo registro de infección por *Capillaria* sp. en un individuo de *A. ordinarium* que también fue infectado por *Hedruris siredonis*, en una localidad con presencia de *Bd*, por lo que sugerimos la existencia de co-infecciones por *Bd* y diferentes especies de nematodos en las poblaciones de *A. ordinarium*.

Agradecimientos.— Este trabajo fue realizado gracias al apoyo de CONACyT a través de la beca posdoctoral otorgada a la Dra. Cinthya Mendoza Almeralla (CVU 205284) y al proyecto SEP/CONACYT 2015 (CB-259173). El permiso de recolección científica fue otorgado a la Dra. Cinthya Mendoza Almeralla y presenta el número SGPA/DGVS/13339/19. CM agradece a Israel Moreno Lara por la ayuda en la elaboración de la figura 1.

LITERATURA CITADA

- Allain, S. J. & A.L. Duffus. 2019. Emerging infectious disease threats to European herpetofauna. *The Herpetological Journal* 29:189-206.
- Alvarado-Rybak, M., M. Lepe-Lopez, A. Peñafiel-Ricourte, A. Valenzuela-Sánchez, C. Valdivia, E.O. Mardones, L.D. Bacigalupe, R. Puschendorf, A.A. Cunningham & C. Azat. 2021. Bioclimatic and anthropogenic variables shape the occurrence of *Batrachochytrium dendrobatidis* over a large latitudinal gradient. *Scientific Reports* 11:17383.
- AmphibiaWeb. 2021. Amphibian conservation. <https://amphibiaweb.org/declines/conservation.html>.
- AmphibiaWeb. 2023. Mexican amphibians. https://amphibiaweb.org/cgi/amphib_query?rel-isocc=like&orderbyaw=Order&where-isocc=Mexico&where-ordr=caudata&show_photos=No
- Anderson, J.D. & R.D. Worthington. 1971. The life history of the Mexican salamander *Ambystoma ordinarium* Taylor. *Herpetologica* 27:165-176.
- Baker, M.R. 1986. Revision of *Hedruris* Nitzsch (Nematoda: Habronematoidea) from aquatic vertebrates of North America. *Canadian Journal Zoology* 64:1567-1572.
- Basanta, M.D., A. Calzada-Arciniega, G. Jiménez Velázquez, S.F. Arias-Balderas, A. Ibarra-Reyes, G. Medina-Rangel, I. Suazo-Ortuño, L.M. Ochoa-Ochoa & G. Parra-Olea. 2019. Detection of *Batrachochytrium dendrobatidis* in threatened endemic mole salamanders (*Ambystoma*) in Mexico. *Herpetological Review* 50:493-495.
- Bell, D.A. & M. Beverley-Burton. 1981. The taxonomy of *Capillaria* spp. (Nematoda: Trichuroidea) in North American freshwater fishes. *Systematic Parasitology* 2:157-169.
- Boyle, D.B., V. Olsen, J. A.T Morgan & A.D. Hyatt. 2004. Rapid quantitative detection of chytridiomycosis (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in amphibian samples using real-time Taqman PCR assay. *Diseases of Aquatic Organisms* 60:141-148.



- Bower, D.S., L.A. Brannelly, C.A. McDonald, R.J. Webb, S.E. Greenspan, M. Vickers, M.G. Garner & M. J. Greenlees. 2019. A review of the role of parasites in the ecology of reptiles and amphibians. *Austral Ecology* 44:433-448.
- Butterworth, E.W. & M. Beverley-Burton. 1980. The taxonomy of *Capillaria* spp. (Nematoda: Trichuroidea) in carnivorous mammals from Ontario, Canada. *Systematic Parasitology* 1:211-236.
- Cabrera-Guzmán, E., M. Papeş & L. García-Prieto. 2021. Research on helminths from Mexican amphibians: gaps, trends, and biases. *Journal of Helminthology* 95:e67.
- Chytrid Swabbing Protocol. 2009. Swabbing. https://amphibiaweb.org/chytrid/swab_protocol.html
- Davidson, E.W., M. Parris, J.P. Collins, J.E. Longcore, A.P. Pessier & J. Brunner. 2003. Pathogenicity and transmission of chytridiomycosis in tiger salamanders (*Ambystoma tigrinum*). *Copeia* 2003:601-607.
- Dyer, W.G. & R.A. Brandon. 1973. New host records of *Hedruris siredonis*, *Falcaustra elongata*, and *F. mascula* from Mexican salamanders. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 40:27-30.
- Falconi, E., M.L. García, R.O. Marín, L.R.M. Padrón, A.M.G. Rivas & S.G. Vargas. 2010. Manual para el manejo de animales con fines de experimentación y enseñanza. http://www.archivos.ujat.mx/dacbiol/docencia/lineamientos/manejo_animales.pdf
- Fisher, M.C, T.W. Garner & S.F. Walker. 2009. Global emergence of *Batrachochytrium dendrobatidis* and amphibian chytridiomycosis in space, time, and host. *Annual Review of Microbiology* 63:291-310.
- Frías-Alvarez, P., V.T. Vredenburg, M. Familiar-López, J.E. Longcore, E. González-Bernal, G. Santos-Barrera & G. Parra-Olea. 2008. Chytridiomycosis survey in wild and captive Mexican amphibians. *EcoHealth* 5:18-26.
- Frost, D.R. 2019. Amphibian Species of the World: an Online Reference. http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/index.php//content/search?taxon=Ambystoma&subtree=&subtree_id=&english_name=&author=&year=&country=525.
- García-Altamirano, I., G.P.P. de León & L. García-Prieto. 1993. Contribución al conocimiento de la comunidad de helmintos de dos especies de anfibios endémicos del Lago de Pátzcuaro, Michoacán: *Rana dunni* y *Ambystoma dumerilii*. *Cuadernos Mexicanos de Zoología* 1:73-80
- Global Bd mapping proyect. 2019. http://www.bdmmaps.net/surveillance/s_country.asp?country=MX
- Hol, W.H.G., P. Garbeva, C. Hordijk, M.P.J. Hundscheid, P.J.A.K. Gunnewiek, M.V. Agtmaal, E.E. Kuramae & W. de Boer. 2015. Non-random species loss in bacterial communities reduces antifungal volatile production. *Ecology* 96: 2041-2048.
- IUCN. 2020. *Ambystoma ordinarium*. <https://www.iucnredlist.org/species/59066/161153310>
- IUCN. 2023. *Ambystoma*. <https://www.iucnredlist.org/search?query=AMBYSTOMA&searchType=species>.
- Johnson, P.T., J.R. Rohr, J.T. Hoverman & E. Kellermanns. 2012. Biodiversity decreases disease through predictable changes in host community competence. *Nature* 494: 230-233.
- Jones, A. 1985. Handbook of the Trematodes of North America north of Mexico. University Press of Idaho: Moscow, Idaho, USA. Idaho Research Foundation.
- Koprivnikar, J., D.J. Marcogliese, J.R. Rohr, S.A. Orlofske, T.R. Raffel & P.T. Johnson. 2012. Macroparasite infections of amphibians: what can they tell us? *EcoHealth* 9:342-360.
- Laking, A.E., H.N. Ngo, F. Pasmans, A. Martel & T.T. Nguyen. 2017. *Batrachochytrium salamandrivorans* is the predominant chytrid fungus in Vietnamese salamanders. *Scientific Reports* 7:1-5.
- Lamothe-Argumedo, R. 1997. Manual de técnicas para preparar y estudiar los parásitos de animales silvestres. Primera edición. AGT Editores.
- Longcore, J.E., A.P. Pessier & D.K. Nichols. 1999. *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia* 91:19-227.
- Longo, A.V., A.E. Savage, I. Hewson & K.R. Zamudio. 2015. Seasonal and ontogenetic variation of skin microbial communities and relationships to natural disease dynamics in declining amphibians. *Royal Society Open Science* 2:140377.
- Lunde, K.B. & P.T. J. Johnson. 2012. A practical guide for the study of malformed amphibians and their causes. *Journal of Herpetology* 46:429-441.



- Martel, A., A. Spitzen-van der Sluijs, M. Blooi, W. Bert, R. Ducatelle, M.C. Fisher & F. Pasmans. 2013. *Batrachochytrium salamandrivorans* sp. nov. causes lethal chytridiomycosis in amphibians. Proceedings of the National Academy of Sciences 110:15325-15329.
- Martel, A., M. Blooi, C. Adriaensen, P. Van Rooij, W. Beukema, M.C. Fisher & K. R. Lips. 2014. Recent introduction of a chytrid fungus endangers Western Palearctic salamanders. Science 346: 630-631.
- Mata-López, R., L. García-Prieto & V. León-Règagnon. 2002. Infracomunidades de helmintos parásitos de *Ambystoma lermaensis* (Caudata: Ambystomatidae) en Lerma, México. Revista de Biología Tropical 50:303-307.
- Montes-Calderón, A.M., J. Alvarado-Díaz & I. Suazo-Ortuño. 2011. Abundancia, actividad espacial y crecimiento de *Ambystoma ordinarium* Taylor 1940 (Caudata: Ambystomatidae) en Michoacán, México. Biológicas Revista de la DES Ciencias Biológico Agropecuarias Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo 13:50-53.
- Nava-González, B., I. Suazo-Ortuño, P.B. López, Y. Maldonado-López, L. Lopez-Toledo, L. Raggi, G. Parra-Olea, J. Alvarado-Díaz & B. Gómez-Gil. 2021. Inhibition of *Batrachochytrium dendrobatidis* infection by skin bacterial communities in wild amphibian populations. Microbial Ecology 82:666-676.
- SEMARNAT. 2010. Norma Oficial Mexicana Nom-059-Semarnat-2010. <https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/4254/semarnat/semarnat.htm>
- Olson, D.H., D.M. Aanensen, K.L. Ronnenberg, C.I. Powell, S.F. Walker, J. Bielby, T.W.J. Garner, G. Weaver, The *Bd* Mapping Group & M.C. Fisher. 2013. Mapping the global emergence of *Batrachochytrium dendrobatidis*, the amphibian chytrid fungus. PLoS ONE 8: e56802.
- Oropeza-Sánchez, M. T., I. Suazo-Ortuño, J. Benítez-Malvido & R. Munguía-Steyer. 2021. Occupancy models including local and landscape variables are useful to assess the distribution of a salamander species at risk. Population Ecology 63:165-176.
- Palumbo, E., A. Servián, R. Sánchez & J. Diaz. 2020. A new species of *Hedruris* (Nematoda: Hedruridae) from freshwater turtles, its life cycle and biogeographic distribution of the genus. Journal of Helminthology 94: e93.
- Poulin, R. 2014. Parasite biodiversity revisited: frontiers and constraints. International Journal for Parasitology 44:581-589.
- Piñon-Flores, M. A., I. Suazo-Ortuño, J.P. Ramírez-Herrejón, R. Moncayo-Estrada & E. del-Val. 2021. Habitat, water quality or geomorphological degradation in the streams: Which is most important for conserving an endemic amphibian of Central Mexico? Journal for Nature Conservation 64:126063.
- Ramírez-Bautista, A., L.A. Torres-Hernández, R. Cruz-Elizalde, C. Berriozabal-Islas, U. Hernández-Salinas, L.D. Wilson, J.D. Johnson, L.W. Porras, C.J. Balderas-Valdivia, A.J.X González-Hernández & V. Mata-Silva. 2023. An updated list of the Mexican herpetofauna: with a summary of historical and contemporary studies. ZooKeys 1166: 287-306.
- Ramírez-Hernández, G., I. Suazo-Ortuño, J. Alvarado-Díaz, L.H. Escalera-Vázquez, Y. Maldonado-López & D. Tafolla-Venegas. 2019. Effects of habitat disturbance on parasite infection and stress of the endangered Mexican stream salamander *Ambystoma ordinarium*. Salamandra 55:160-172.
- Scheele, B. C., F. Pasmans, L. F. Skerratt, L. Berger, A. Martel, W. Beukema & I. De la Riva. 2019. Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity. Science 363: 1459-1463.
- Smith, J.D. 1990. In Vitro Cultivation of Parasitic Helminths. CRC Press.
- Soto-Rojas, C., I. Suazo-Ortuño, J.A.M. Laos & J. Alvarado-Díaz. 2017. Habitat quality affects the incidence of morphological abnormalities in the endangered salamander *Ambystoma ordinarium*. PLoS ONE 12: e0183573.
- Spitzen-van der Sluijs, A., A. Martel, J. Asselberghs, E.K. Bales, W. Beukema, M. Bletz & K. Kirst. 2016. Expanding distribution of lethal amphibian fungus *Batrachochytrium salamandrivorans* in Europe. Emerging Infectious Diseases 22:1286.
- Szuroczki, D. & J.M.L. Richardson. 2009. The role of trematode parasites in larval anuran communities: an aquatic ecologist's guide to the major players. Oecologia 161:371-385.
- Young, B. E., S. N. Stuart, J. S. Chanson, N.A. Cox & T. M. Boucher. 2004. Joyas que Están Desapareciendo: el Estado de los Anfibios en el Nuevo Mundo. Arlington Virginia: Nature Serve.
- Wake, D. B. & V. T. Vredenburg. 2008. Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. Proceedings of the National Academy of Sciences 105: 11466-11473.

