



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Toxicidad de compuestos nitrogenados
(amonio, nitrito y nitrato) en el desarrollo
embrionario de anfibios anuros y urodelos:
estudio de caso del *Ambystoma mexicanum*
de la Zona Lacustre de Xochimilco. Una
revisión bibliográfica.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

JESSICA ROSAS FLORES

**DIRECTORA DE TESIS:
DRA. RUTH CECILIA VANEGAS PÉREZ**

Ciudad Universitaria, CDMX. 2023.





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

1. Datos del alumno

Rosas
Flores
Jessica
56 28 15 26 66
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
309333337

2. Datos del tutor

Dra.
Ruth Cecilia
Vanegas
Pérez

5. Datos del sinodal 1

Dr.
Luis
Zambrano
González

5. Datos del sinodal 2

Dra.
Adriana
Muñoz
Hernández

5. Datos del sinodal 3

Dra.
Irma Aurora
Rosas
Pérez

6. Datos del sinodal 4

Dra.
Claudia Alejandra
Ponce
de León Hill

7. Datos del trabajo escrito

Toxicidad de compuestos nitrogenados (amonio, nitrito y nitrato) en el desarrollo embrionario de anfibios anuros y urodelos: estudio de caso del *Ambystoma mexicanum* de la Zona Lacustre de Xochimilco. Una revisión bibliográfica
104p.
2023

A mis padres

A mis padres Antonio Rosas Mendoza y María Eugenia Flores Balderas porque sin su apoyo y paciencia jamás hubiera podido lograr mi gran sueño de ser bióloga. Este trabajo es la meta cumplida de un gran esfuerzo que hicimos los tres, gracias por estar siempre para apoyarme y por todo el cariño que me han dado, esto es con mucho amor para ustedes.

AGRADECIMIENTOS

La presente tesis se desarrolló con el apoyo otorgado por el Programa UNAM-DGAPA-PAPIIT (PE 216621; 2021-2022) en el marco del Proyecto de Investigación “Efecto de compuestos nitrogenados en el estrés oxidante y la condición fisiológica durante el desarrollo embrionario y larval del ajolote *Ambystoma mexicanum*: un reto para su conservación en la Zona Lacustre de Xochimilco en un escenario post COVID-19”, en el cual participé como becaria Tesis de Licenciatura durante el año 2021.

A la Dra. Ruth Cecilia Vanegas Pérez por recibirme en el laboratorio y por todo el apoyo que me otorgó durante mi estancia en el laboratorio de Ecotoxicología de Organismos Acuáticos, por su paciencia para explicarme cada duda y transmitirme mucho de su gran conocimiento académico y en la vida diaria, le agradezco el mostrarme un gran ejemplo de una mujer trabajadora y dedicada a la ciencia.

Al maestro en Ciencias Sebastian Zúñiga Linares por ser mi asesor durante mis actividades del servicio social, explicarme y enseñarme todo acerca del manejo de los equipos y mantenimiento de los organismos en el laboratorio.

A los miembros de mi jurado el Dr. Luis Zambrano González, la Dra. Adriana Muñoz Hernández, la Dra. Irma Aurora Rosas Pérez y la Dra. Claudia Alejandra Ponce de León Hill por aceptar ser parte de mi jurado y brindarme todas las observaciones y correcciones para hacer de mi escrito un mejor trabajo.

Al Dr. José Antonio Ocampo Cervantes por todo el apoyo que nos proporcionó para la obtención de organismos que se utilizaron para el desarrollo del proyecto.

A mi colega y amiga del laboratorio Lupita, por todas las risas, momentos compartidos y excelente equipo de trabajo que hicimos durante el desarrollo de nuestras tesis.

A mis amigas Dani y Pam, mis primeras amistades en la universidad, por siempre estar para escucharme, aconsejarme y motivarme cuando lo he necesitado, gracias por las risas y por su amistad durante tanto tiempo.

A mis ficoamigas Miri, Natt y Pau, por su ficoamistad, cariño y apoyo durante estos años, le agradezco a la vida por haber coincidido con ustedes en el sitio y el momento exacto.

A mis hermanos Michel, Karina y Alejandro, porque la vida sin hermanos debe de ser muy aburrida, las risas, las peleas y anécdotas las llevo en mi cora.

A mis amigos perrunos Babbis y Doguito, por ser mis mejores amigos y por todo el amor que me han dado durante todos estos años.

A todas las montañeras, porque con ustedes aprendí a ver la vida desde un nuevo cielo azul y veredas verdes, siendo acompañada de mujeres increíbles.

ÍNDICE

Resumen	1
Introducción	2
Capítulo I: Compuestos nitrogenados y su problemática por contaminación en sistemas dulceacuícolas	
1. Ciclo del Nitrógeno	5
1.1 Amonificación	
1.2 Nitrificación	
1.3 Desnitrificación	
1.4 Oxidación anaerobia del amonio a N ₂	
1.5 Fijación de nitrógeno	
2. Compuestos nitrogenados en los sistemas acuáticos	7
2.1 Excreción nitrogenada en organismos acuáticos amoniotélicos	
3. Efectos antrópicos en el ciclo del nitrógeno	11
4. Toxicidad de los compuestos nitrogenados en organismos acuáticos dulceacuícolas.....	13
4.1 Amonio (NH ₄ ⁺ ; NH ₃)	
4.2 Nitrito (NO ₂ ⁻)	
4.3 Nitrato (NO ₃ ⁻)	
5. Problemática ambiental por compuestos nitrogenados en la Zona Lacustre de Xochimilco como sitio de estudio de caso	17
5.2 Problemática ambiental por el aporte de contaminantes	
5.3 Compuestos nitrogenados en la Zona Lacustre de Xochimilco	
6. Caso de <i>Ambystoma mexicanum</i>	26
6.1 Biología del ajolote	
6.2 Problemática de la especie en peligro de extinción	
6.3 Antecedentes en <i>A. mexicanum</i>	
Capítulo II: Mecanismos de toxicidad de los compuestos nitrogenados en organismos acuáticos	
7. Anfibios: especies en riesgo por la contaminación de los sistemas acuáticos	32
7.1 Los anfibios y su importancia en el ecosistema	
7.2 Declive y extinción de poblaciones	
7.3 Susceptibilidad de los anfibios a la acción tóxica de los contaminantes en los sistemas acuáticos	
8. Mecanismos de incorporación celular de los compuestos nitrogenados	37
8.1 Amonio (NH ₄ ⁺ ; NH ₃)	
8.2 Nitrito (NO ₂ ⁻)	
8.3 Nitrato (NO ₃ ⁻)	
9. Estrés oxidante	43
9.1 Especies reactivas de oxígeno (ROS)	

9.2 Especies reactivas de nitrógeno (RNS)	
9.3 Estrés oxidativo y nitrosativo por compuestos nitrogenados en organismos acuáticos	
10. Susceptibilidad de los anfibios durante las primeras etapas de desarrollo	50
10.1 Estructura de ovocitos de anfibios	
10.2 Rutas de entrada de contaminantes en los ovocitos	
10.3 Efectos tóxicos de los compuestos nitrogenados en anuros y urodelos durante los estadios tempranos de desarrollo.	
10.4 Estrés redox y señalización celular en etapas tempranas de desarrollo de organismos acuáticos.	
10.5 Estudios ecotoxicológicos en <i>A. mexicanum</i>	
11. Conclusiones	67
12. Recomendaciones	68
13. Bibliografía	69
14. Anexo I. Concentración de compuestos nitrogenados (amonio, nitrito y nitrato) en la Zona Lacustre de Xochimilco (2017, 2021)	88

Índice de Tablas

	Página
Tabla 1. Valores mínimo y máximo de las concentraciones de compuestos nitrogenados (amonio, nitrito y nitrato) en las zonas de muestreo del sistema lacustre de Xochimilco realizados en 2017 (Vanegas et al., 2017) y 2021 (datos sin publicar; PAPIIT IN2116621). Los niveles máximos permisibles para la vida acuática de cada compuesto nitrogenado (NMPVA) se estimaron considerando el pH y la temperatura de los sitios de muestreo (Nordin y Pommen, 2009).	25
Tabla 2. Efectos subletales en anuros por la exposición crónica a contaminantes como fertilizantes, pesticidas, herbicidas, metales y por efecto de la radiación UV-B (Adelizzi et al., 2019; Weir et al; 2019; Jayawardena et al., 2017; Lipinski et al., 2016; Liendro et al., 2015; Palen et al., 2015; Wagner et al., 2015; Edge et al., 2014; Robles-Mendoza et al., 2009).	54
Tabla 3. Efectos subletales en embriones y larvas de anuros y urodelos por la exposición crónica a amonio (NH_4^+) y amoniaco (NH_3).	57
Tabla 4. Efectos subletales en embriones y larvas de anuros y urodelos por la exposición crónica a nitrito (N-NO_2).	58
Tabla 5. Efectos subletales en embriones y larvas de anuros y urodelos por la exposición crónica a nitrato (N-NO_3).	59

Índice de Figuras

	Página
Figura 1. Síntesis de los artículos consultados en la revisión bibliográfica y temáticas particulares.	4
Figura 2. Esquema del Ciclo biológico del nitrógeno (modificado de Bothe et al., 2006).	5
Figura 3. Reacción de nitrificación en el ciclo del nitrógeno (Tortora et al., 2016).	6
Figura 4. Reacción de desnitrificación en el ciclo del nitrógeno (Tortora et al., 2016).	6
Figura 5. Oxidación de NH_4^+ por el proceso de anammox en donde se utilizan los iones de nitrito NO_2^- como aceptor de electrones para producir N_2 (Op den Camp et al., 2007).	7
Figura 6. Mecanismos de excreción de amonio (NH_4^+) y amoniaco (NH_3) en organismos acuáticos dulceacuicolas. Se incluye la participación de las glicoproteínas Rhesus (Rhbg, Rhcg), de la Na^+/K^+ -ATPasa (NKA), el intercambiador 2 de Na^+/H^+ (NHE2), el intercambiador 3 de Na^+/H^+ (NHE3) y la protón-ATPasa (H^+ -ATPasa) en la excreción de amonio a través de las branquias de peces de agua dulce (reproducido de Ip y Chew, 2010).	9
Figura 7. Ciclo del α -Cetoglutarato en donde se señalan algunas vías del metabolismo de aminoácidos para la producción final de amoniaco (modificado de Hill, 2021).	10
Figura 8. Ionocitos implicados en el transporte iónico del amonio (NH_4^+) en el pez cebra (<i>Danio rerio</i>) (reproducido de Yan y Hwang, 2019).	11
Figura 9. Esquema del ciclo del nitrógeno y fuentes de contaminación antrópica que incrementan las concentraciones de compuestos nitrogenados en los sistemas acuáticos (A) y alteran procesos relacionados con el ciclo del nitrógeno (B) (reproducción modificada de Elizondo-Salazar, 2006).	12
Figura 10. Esquema de la toxodinámica de los compuestos nitrogenados (amonio, nitrito y nitrato) en organismos acuáticos. (creación propia).	16
Figura 11. Localización del área natural protegida “Ejidos de Xochimilco y San Gregorio Atlapulco”, Xochimilco, México (modificado de Pérez et al., 2019).	17
Figura 12. Aves migratorias en el Parque Ecológico de Xochimilco (foto propia, enero 2022).	18
Figura 13. Crecimiento del lirio acuático (<i>Eichhornia crassipes</i>) e invasión en los canales de la Zona lacustre de Xochimilco (Foto propia, diciembre 2021).	22
Figura 14. Zonación de la zona lacustre de Xochimilco en relación a las actividades agrícolas y al impacto urbano: ZU: Zona Urbana; ZH: Zona de Humedal; ZCHT: Zona Chinampera de transición; ZCH: Zona Chinampera; ZI: Zona de Invernaderos. Los puntos blancos señalan los sitios de muestreo (Vanegas et al., 2017).	24
Figura 15. Ejemplar adulto de <i>Ambystoma mexicanum</i> (Voss et al., 2015).	27
Figura 16. Declive de las poblaciones de <i>Ambystoma mexicanum</i> en el Área natural protegida San Gregorio Atlapulco, Xochimilco (Voss et al., 2015).	29
Figura 17. Categorías de la Lista Roja (UICN) para todas las especies de anfibios (reproducción de Stuart et al., 2008).	33

Figura 18. Causas del declive de poblaciones y especies de anfibios a nivel mundial (reproducción de Blaustein et al., 2011).	34
Figura 19. Mecanismos de entrada del amonio (NH_4^+ y NH_3) en las células. El NH_3 tiene alta capacidad de permeabilidad y la forma de NH_4^+ compete con K^+ y H^+ en los sitios de unión para intercambio iónico intracelular (creación propia; basado en Ip et al., 2010; Wright et al., 2009 y Weihrauch et al., 2009).	38
Figura 20. Mecanismo de absorción de los iones de nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-) a través de las branquias de organismos dulceacuícolas (creación propia; basado en Hill et al., 2012).	40
Figura 21. Representación esquemática de los iones de cloro, nitrito y nitrato (Modificado de Lowje, 2023).	41
Figura 22. Diagrama de la toxicocinética de los compuestos nitrogenados en <i>Ambystoma mexicanum</i> (creación propia).	42
Figura 23. Ruta de producción de especies reactivas (ROS) y las enzimas antioxidantes (reproducido de Lushchak, 2016).	44
Figura 24. Balance entre la producción y la eliminación de ROS y sus efectos biológicos potenciales (editado de Lushchak, 2011).	46
Figura 25. Diagrama de las vías de producción de especies reactivas de oxígeno (ROS-color verde) y especies reactivas de nitrógeno (RNS-color azul) en la mitocondria (creación propia basada en Davalli et al., 2016; Nelson y Cox, 2014; Valko et al., 2007).	47
Figura 26. Desarrollo embrionario de <i>Ambystoma mexicanum</i> dividido en las fases de fecundación, segmentación, gastrulación, neurulación y eclosión (creación propia basada en la descripción de Bordzilovskaya et al., 1989).	51
Figura 27. Representación de la estructura interna de un ovocito maduro de <i>Xenopus laevis</i> (FAA: aminoácidos libres por sus siglas en inglés) (Craig y Ozlem, 2018).	51
Figura 28. Representación de canales iónicos en ovocitos de <i>Xenopus laevis</i> y la presencia de proteínas Rh descritas en peces (Terhag et al., 2010; Wright y Wood, 2009).	53
Figura 29. Malformaciones en el desarrollo embrionario de <i>Bufo gargarizans</i> (A-B) y <i>Rana chensinensis</i> (C) por exposición a N-NH_4^+ (barra blanca equivale 1mm) (Deng et al., 2017).	62
Figura 30. Malformaciones en embriones de <i>Ambystoma mexicanum</i> por exposición crónica individual a amonio, nitrito y nitrato. A) Ausencia de desarrollo y edemas. B) Ausencia de cola en organismo recién eclosionado. C) Lordosis en organismo recién eclosionado (Mendoza, 2009).	65
Anexo 1. Concentración de compuestos nitrogenados (amonio, nitrito y nitrato) en la Zona Lacustre de Xochimilco (2017, 2021).	89
Figura 31. Concentración de amonio (mg N-AT/L) en agua superficial de la zona lacustre de Xochimilco en el periodo 2017 y 2021 en los sitios de estudio correspondientes a: Zona Urbana (ZU), Zona Chinampera (ZCH) y Zona Chinampera de Transición (ZCHT). En cada figura las líneas horizontales denotan los Niveles Máximos Permisibles para la Vida Acuática para un periodo de exposición de 30 días (NMPVA-30d).	89
Figura 32. Concentración de amonio (mg N-AT/L) en agua superficial de la zona lacustre de Xochimilco en el periodo 2017 y 2021 en los sitios de estudio correspondientes a: Zona de	

Humedales (ZH), Zona de Invernaderos (ZI) y Parque Ecológico de Xochimilco (PEX). En cada figura las líneas horizontales denotan los Niveles Máximos Permisibles para la Vida Acuática para un periodo de exposición de 30 días (NMPVA-30d). 90

Figura 33. Concentración de nitrito ($\text{mg N-NO}_2/\text{L}$) en agua superficial de la zona lacustre de Xochimilco en el periodo 2017 y 2021 en los sitios de estudio correspondientes a: Zona Urbana (ZU), Zona Chinampera (ZCH) y Zona Chinampera de Transición (ZCHT). En cada figura las líneas horizontales denotan los Niveles Máximos Permisibles para la Vida Acuática para un periodo de exposición de 30 días (NMPVA-30d). 91

Figura 34. Concentración de nitrito ($\text{mg N-NO}_2/\text{L}$) en agua superficial de la zona lacustre de Xochimilco en el periodo 2017 y 2021 en los sitios de estudio correspondientes a: Zona de Humedales (ZH), Zona de Invernaderos (ZI) y Parque Ecológico de Xochimilco (PEX). En cada figura las líneas horizontales denotan los Niveles Máximos Permisibles para la Vida Acuática para un periodo de exposición de 30 días (NMPVA-30d). 92

Figura 35. Concentración de nitrato ($\text{mg N-NO}_3/\text{L}$) en agua superficial de la zona lacustre de Xochimilco en el periodo 2017 y 2021 en los sitios de estudio correspondientes a: Zona Urbana (ZU), Zona Chinampera (ZCH) y Zona Chinampera de Transición (ZCHT). En cada figura las líneas horizontales denotan los Niveles Máximos Permisibles para la Vida Acuática para un periodo de exposición de 30 días (NMPVA-30d). 93

Figura 36. Concentración de nitrato ($\text{mg N-NO}_3/\text{L}$) en agua superficial de la zona lacustre de Xochimilco en el periodo 2017 y 2021 en los sitios de estudio correspondientes a: Zona de Humedales (ZH), Zona de Invernaderos (ZI) y Parque Ecológico de Xochimilco (PEX). En cada figura las líneas horizontales denotan los Niveles Máximos Permisibles para la Vida Acuática para un periodo de exposición de 30 días (NMPVA-30d). 94

RESUMEN

La contaminación por nitrógeno en los ecosistemas acuáticos es un fenómeno recurrente asociado a la aplicación de fertilizantes nitrogenados en las actividades agrícolas, así como al aporte de aguas residuales enriquecidas con materia orgánica y compuestos nitrogenados. Las formas iónicas de nitrógeno inorgánico más comunes en los sistemas acuáticos son el amonio (NH_4^+), el nitrito (NO_2^-) y el nitrato (NO_3^-). Sin embargo, estos compuestos en altas concentraciones pueden ejercer efectos tóxicos que ponen en riesgo el desarrollo, la reproducción y la supervivencia de los organismos acuáticos. Este incremento de los compuestos nitrogenados en los cuerpos de agua se considera como una de las causas de mayor influencia en la disminución global en las poblaciones de anfibios. La elevada sensibilidad de estos organismos, en comparación con otros organismos acuáticos, obedece a diversos factores como su ciclo de vida bifásico (acuático y terrestre), la elevada permeabilidad cutánea que favorece las tasas de absorción de tóxicos ambientales y la época reproductiva y/o de desarrollo de los organismos, lo cual coincide con la aplicación de agroquímicos, aunado a la baja tasa de movilidad, lo que ocasiona impactos negativos en los organismos en su hábitat.

En esta revisión bibliográfica se abordó el comportamiento de los compuestos nitrogenados en los sistemas acuáticos continentales, ambientes relevantes como receptores de su descarga y depósito, y se analizaron los mecanismos de su toxicidad y los efectos adversos que ocasionan en organismos de elevada sensibilidad como son los anfibios anuros y urodelos, haciendo énfasis en sus etapas de desarrollo embrionario y primeros estadios larvales. Como estudio de caso se analizó la situación del ajolote *Ambystoma mexicanum*, especie catalogada en peligro de extinción sujeta a protección especial (NOM-059-2010) y en estado crítico de acuerdo con la Unión Internacional Para la Conservación de la Naturaleza (IUCN). El estado crítico de *A. mexicanum* obedece a la disminución significativa de la población en su hábitat relacionada con el impacto de actividades humanas. En 1998 se reportaron 6000 individuos/km², en 2004 se redujo significativamente a 1000 individuos/km², en 2008 a 100 individuos/km² y en 2009 a tan sólo 0.001 individuos/km². Se ha estimado que de continuar esta tendencia se registraría la extinción total de la especie en su hábitat para el año 2027.

Palabras clave: Ambystoma mexicanum, anfibios, toxicidad, amonio, nitrito, nitrato, estrés redox, desarrollo embrionario.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se ha observado un incremento en la concentración de compuestos nitrogenados en los sistemas acuáticos continentales. Esto ha ocasionado alteraciones en la movilidad del nitrógeno en estos ecosistemas y ha repercutido en efectos adversos en la biota acuática (Mosley et al., 2022; Meza-Gonzales et al., 2022). Los anfibios son un grupo que ha sido ampliamente estudiado por tener una elevada sensibilidad a los tóxicos ambientales asociada a su permeabilidad cutánea, lo cual los hace más vulnerables en los cuerpos de agua impactados por numerosos contaminantes incluidos los compuestos nitrogenados (Svartz et al., 2015; Taylor et al., 1999). Si bien se han reportado diversos estudios sobre la toxicidad de los compuestos nitrogenados en anuros (Valencia-Castañeda et al., 2019; Egea-Serrano y Tejeda, 2014; Ortiz-Santaliestra et al., 2010; Krishnamurthy et al., 2008; Ortiz-Santaliestra et al., 2006; Smith et al., 2005; Ortiz et al., 2004), son pocos los estudios publicados que abordan sus efectos tóxicos en las especies de urodelos (Mendoza, 2009; Griffis-Kyle et al., 2004; Marco et al., 1999; Huey et al., 1980) y aún más reducidos en el ajolote *Ambystoma mexicanum*, urodelo endémico de la cuenca del Valle de México y considerada en peligro de extinción en su hábitat natural (Zambrano et al., 2010; Contreras et al., 2009; Zambrano et al., 2007).

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es recopilar información reportada y realizar una síntesis y descripción de los efectos tóxicos en anuros y urodelos de los compuestos nitrogenados como contaminantes ubicuos en los sistemas acuáticos continentales, por la exposición crónica a condiciones ambientalmente relevantes (concentraciones reportadas en los sistemas acuáticos dulceacuícolas). Con la información obtenida se plantea evaluar si las condiciones actuales de la Zona Lacustre de Xochimilco, hábitat natural actual de *A. mexicanum*, son adecuadas para garantizar la viabilidad y mantenimiento a largo plazo de sus poblaciones.

Para este trabajo se realizó una revisión bibliográfica utilizando las plataformas de Scopus, Scimedirect, Scholar Google y Google Academic. Los criterios de

selección se basaron en: a) las fuentes endógenas y exógenas de los compuestos nitrogenados en sistemas acuáticos, b) su acción tóxica en anfibios considerando el tiempo de exposición (crónico), sus efectos subletales y los estadios de mayor sensibilidad (etapas embrionario y larval), y c) la fecha de publicación. El 55% del total de artículos (222) son del 2010-2023, el 39% del 2001-2009 y solo el 6% corresponden a artículos anteriores al año 2000, los cuales se decidieron incorporar debido a la relevancia de su contenido. De los artículos totales revisados (222), el 13% abordan aspectos sobre el ciclo del nitrógeno; el 25% integra información sobre la excreción nitrogenada y el transporte celular del amonio, nitrito y nitrato, así como los mecanismos de toxicidad en organismos acuáticos dulceacuícolas; el 49% abordan efectos adversos en los anfibios por la presencia de contaminantes en los sistemas acuáticos dulceacuícolas y, el 13% son referentes al deterioro ambiental de la Zona Lacustre de Xochimilco, México, sitio objeto de estudio.

En cuanto a la revisión particular en anfibios (110), el 10% de los artículos abordan la problemática a nivel mundial del declive de sus poblaciones; el 25% se centran en el efecto tóxico de los compuestos nitrogenados en anuros y urodelos en sistemas dulceacuícolas y el 17% abordan los efectos adversos por otros contaminantes; el 22% abarca información general sobre el desarrollo, ecología, desarrollo embrionario y factores que ocasionan el estrés oxidante celular, mientras que el 26% aborda información acerca de la biología y ecología del ajolote *Ambystoma mexicanum*. De los trabajos que abordan el efecto tóxico de los compuestos nitrogenados en anfibios, centrado en los primeros estadios del desarrollo embrionario y larval (27), el 63% estudian el efecto tóxico por la exposición individual a un compuesto nitrogenado (amonio, o nitrito o nitrato), mientras que el 37% analizan los efectos de la mezcla de dos o más compuestos nitrogenados u otra variable de estrés. De éstos, el 93% de los estudios son realizados bajo condiciones de laboratorio y sólo el 7% son realizados directamente en el medio natural. Cabe resaltar que el 85% de los trabajos son realizados en anuros y sólo el 15% en urodelos, lo que evidencia a la vez la necesidad de

incrementar los estudios en especies de urodelos como *Ambystoma mexicanum* en condiciones ambientalmente relevantes (Figura 1).

Año de publicación de los artículos N (%)			
Hasta 1999	2001-2009	2010 - 2023	Total
14 (6%)	74 (33%)	134 (61%)	222

Revisión de artículos totales	N (%)
Ciclo del Nitrógeno.	29 (13%)
Metabolismo, toxicidad y excreción de N.	55 (25%)
Xochimilco.	28 (13%)
Anfibios (temas diversos).	110 (49%)
Total	222

Exposición crónica de CN	Anuros N (%)	Urodelos N (%)
Huevo	5 (22%)	0
Larva	16 (70%)	2 (50%)
Huevo- Larva	2 (8%)	2 (50%)
Total	23	4

Revisión de artículos de anfibios	N (%)
Declive anfibios.	11 (10%)
Toxicidad de CN.	27 (25%)
Toxicidad de Contaminantes (otros).	19 (17%)
Otros (revisiones, desarrollo embrionario, estrés oxidante).	24 (22%)
<i>Ambystoma mexicanum</i> .	29 (26%)
Total	110

Toxicidad de CN	N (%)
Individual	63% (17)
Mezcla	37% (10)
Total	27

Trabajo experimental	N (%)
Laboratorio	25 (93%)
Campo	2 (7%)
Total	27

Fig. 1. Síntesis de los artículos consultados en la revisión bibliográfica y temáticas particulares.

La información obtenida fue integrada en dos capítulos: En el primer capítulo se integra información sobre el origen y distribución de los compuestos nitrogenados en los sistemas acuáticos dulceacuícolas, así como las diversas fuentes que han incrementado sus concentraciones en los últimos años. También se aborda la problemática de la Zona Lacustre de Xochimilco como estudio de caso, para identificar las principales causas de su deterioro y la situación en particular del ajolote *Ambystoma mexicanum*. En el segundo capítulo se recopila información sobre los mecanismos de toxicidad de los compuestos nitrogenados en organismos acuáticos dulceacuícolas, haciendo énfasis en los primeros estadios de desarrollo de los anuros y urodelos, así como en las alteraciones del estado redox celular y el

balance antioxidante, ya que se ha relacionado el estrés oxidante como una condición de estrés que subyace de la presencia de contaminantes en los sistemas acuáticos.

CAPÍTULO I. COMPUESTOS NITROGENADOS Y SU PROBLEMÁTICA POR CONTAMINACIÓN EN LOS SISTEMAS DULCEACUÍCOLAS

1. Ciclo del nitrógeno

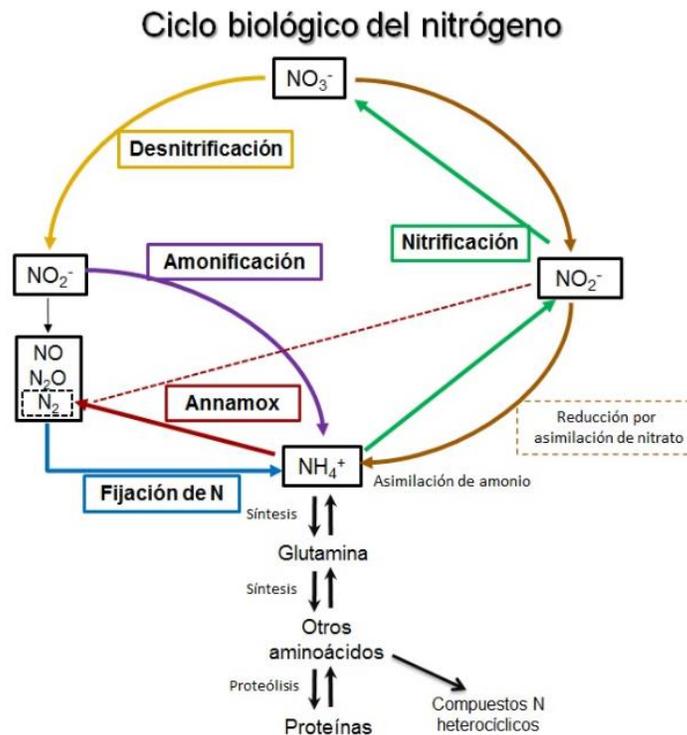


Fig. 2. Esquema del Ciclo biológico del nitrógeno (modificado de Bothe et al., 2006).

El nitrógeno (N_2) es un elemento que se puede encontrar en la forma de moléculas orgánicas, minerales, gases e iones móviles. Se ha estimado que representa hasta un 78% de los gases atmosféricos, aunque se requiere pasar por un proceso de fijación (atmosférico o biológico) para que los organismos puedan utilizarlo (Nieder y Benbi, 2008). El nitrógeno atmosférico pasa por distintas fases a través de la actividad de microorganismos específicos (Tortora et al., 2016; Evert y Eichhorn, 2013) (Figura 2), las cuales se describen brevemente.

1.1 Amonificación

La mayor parte del nitrógeno en los organismos se encuentra incorporado en las moléculas orgánicas, principalmente en las proteínas. Durante el proceso de descomposición microbiana se liberan enzimas que descomponen proteínas y aminoácidos, y los resultantes son transportados hacia el interior de las células microbianas, en donde ocurre la amonificación. El grupo amino de los aminoácidos es removido y convertido en amonio (vía ciclo del α -cetoglutarato) (Tortora et al., 2016; Bothe et al., 2006).

1.2 Nitrificación

La nitrificación se lleva a cabo por la oxidación del nitrógeno en su forma de ion amonio (NH_4^+) produciendo nitrato (NO_3^-). Estas reacciones son reguladas y catalizadas por bacterias autótrofas nitrificantes de los géneros *Nitrosomonas* y *Nitrobacter* (Tortora et al., 2016; Ferguson et al., 2007) (Figura 3).

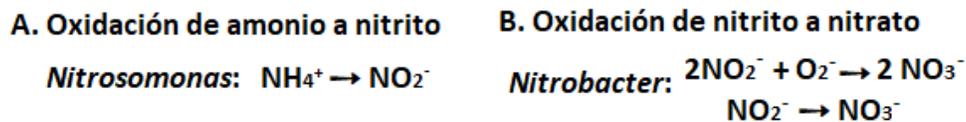


Fig. 3. Reacción de nitrificación en el ciclo del nitrógeno (Tortora et al., 2016).

1.3 Desnitrificación

La desnitrificación involucra la transformación del nitrato (NO_3^-) en nitrógeno gaseoso (N_2) y ocurre en diferentes fases (Figura 4). Todos los pasos dentro de esta vía metabólica son catalizados por metaloenzimas (Tortora et al., 2016; Ambus y Zechmeister, 2007).

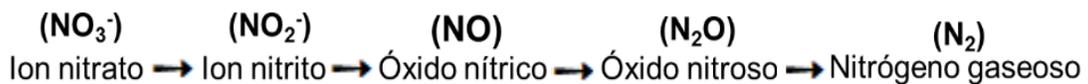


Fig. 4. Reacción de desnitrificación en el ciclo del nitrógeno (Tortora et al., 2016).

La desnitrificación usualmente ocurre en suelos anegados y sedimentos con poco oxígeno disponible. Ante la ausencia de oxígeno como aceptor de electrones, las bacterias desnitrificantes transforman los nitratos convirtiendo gran parte del nitrato útil en gas nitrógeno (N_2) (Tortora et al., 2016).

1.4 Oxidación anaerobia del amonio a N₂

Se han identificado otros microorganismos que intervienen en el ciclo global del nitrógeno, las bacterias anammox (*anaerobic ammonium oxidation*). Estas bacterias se encargan de oxidar el amonio (NH₄⁺) a nitrógeno gaseoso (N₂) utilizando los iones de nitrito (NO₂⁻) como aceptor de electrones (Sanabria et al., 2009; Op den Camp et al., 2007) (Figura 5).

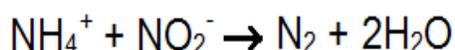


Fig. 5. Oxidación de NH₄⁺ por el proceso de anammox en donde se utilizan los iones de nitrito NO₂⁻ como aceptor de electrones para producir N₂ (Op den Camp et al., 2007).

1.5 Fijación de nitrógeno

La fijación biológica es realizada por los microorganismos conocidos como diazótrofos, según su función de vida libre o en asociación en simbiosis. Durante este proceso se reduce el gas nitrógeno (N₂) a amonio (NH₄⁺) por medio de un complejo enzimático llamado nitrogenasa (Canfield et al., 2010; Newton, 2007). En un sistema lacustre la fijación biológica de nitrógeno ocurre a través de la actividad bacteriana y por las cianofitas, las cuales son componentes importantes en el ciclo del nitrógeno de las aguas continentales (Galizia y Matsumura, 2011).

2. Compuestos nitrogenados en los sistemas acuáticos dulceacuícolas

Las formas iónicas de nitrógeno inorgánico más comunes en los ecosistemas acuáticos son el amonio (NH₄⁺ y NH₃), el nitrito (NO₂⁻) y el nitrato (NO₃⁻) y se encuentran típicamente en bajas concentraciones (Mosley et al., 2022). La forma química del amonio en el agua comprende dos especies: el amonio ionizado (NH₄⁺) y el amoniaco o amonio no ionizado (NH₃) el cual se combina con iones de hidrógeno para producir el ion amonio NH₄⁺ (Nordin y Pommen, 2009).

Los compuestos nitrogenados se pueden encontrar de forma natural en los sistemas acuáticos por distintas fuentes: deposición atmosférica, escorrentía superficial y subterránea, disolución de depósitos geológicos ricos en nitrógeno, descomposición

biológica de la materia orgánica y fijación biológica del nitrógeno que llevan a cabo ciertos procariontes (Arana et al., 2017; Cervantes, 2009). Otra fuente biogénica es el producto de la excreción de amonio, característica de organismos amoniotélicos en sistemas acuáticos (i.e. peces, crustáceos, bivalvos, anfibios) (Dodson, 2005; Wilkie, 2002). En el siguiente acápite, se amplía la información sobre la excreción nitrogenada de organismos amoniotélicos como fuente endógena del amonio en los sistemas acuáticos.

2.1 Excreción nitrogenada en organismos acuáticos amoniotélicos

En los sistemas acuáticos de limitada circulación y con una alta densidad de especies, la falta de control puede incrementar la carga de materia orgánica y compuestos nitrogenados (fundamentalmente amonio), debido a la excreción nitrogenada y al aporte de heces en el sistema acuático (Chaparro et al., 2020; Zambrano e Hinojosa, 1999). La mayoría de los organismos acuáticos excretan del 80-90% de sus desechos nitrogenados como amoniaco o amonio (NH_3 , NH_4^+) y el resto como urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) (Nelson y Cox, 2014; Wilkie, 2002). Se ha reportado que más del 80% del nitrógeno total (amonio + urea) es excretado por las branquias de peces (Evans et al., 2005), en donde las moléculas de amonio (NH_4^+ , NH_3) y urea se transportan a través de la capa lipídica de la membrana plasmática, un proceso de excreción en gran parte pasivo en donde el amonio es excretado a través del epitelio branquial por medio de un gradiente de difusión favorable de sangre > agua (Weihrauch et al., 2009).

En el caso de los anfibios, durante las etapas larvales y en los adultos de especies neoténicas, la excreción de amonio se lleva a cabo a través de las branquias, mientras que en anuros adultos completamente acuáticos como en *Xenopus laevis*, se lleva a cabo a través de estructuras permeables cutáneas o “parches” (dorsales y ventrales) (Cruz et al., 2013). Posterior a la metamorfosis y en la transición terrestre, el principal producto de excreción en la mayoría de los anuros y urodelos es la urea, a excepción de algunas especies de anuros hílidos arborícolas del

género *Phyllomedusa* que son uricotélicos y presentan adaptaciones particulares para la conservación del agua (Wells, 2007).

El amonio es excretado como NH_4^+ mediante la secreción de H^+ . Este mecanismo es facilitado por la excreción de CO_2 en la superficie apical de las branquias a través del intercambio de la H^+ -ATPasa y el antiporte de Na^+/H^+ (difusión facilitada), así como a través de la Na^+/K^+ -ATPasa (transporte activo) en la superficie basolateral (Ip Chew, 2010; Wilkie, 2002; Martinelle y Häggström, 1993) (Figura 6).

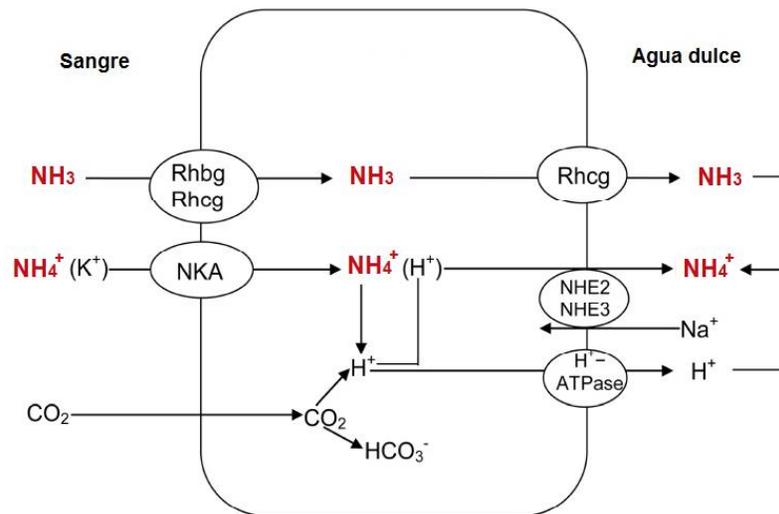


Fig. 6. Mecanismos de excreción de amonio (NH_4^+) y amoniaco (NH_3) en organismos acuáticos dulceacuicolas. Se incluye la participación de las glicoproteínas Rhesus (Rhbg, Rhcg), de la Na^+/K^+ -ATPasa (NKA), el intercambiador 2 de Na^+/H^+ (NHE2), el intercambiador 3 de Na^+/H^+ (NHE3) y la H^+ -ATPasa en la excreción de amonio a través de las branquias de peces de agua dulce (reproducido de Ip y Chew, 2010).

La producción de amonio se lleva a cabo a nivel hepático, aunque también puede producirse en el músculo, intestino y estructuras renales (i.e. riñón), a través de enzimas asociadas con el proceso de desaminación de aminoácidos mediante el ciclo del α -cetoglutarato (Wilkie, 2002). El grupo amino de los aminoácidos que contiene nitrógeno es extraído por una reacción de desaminación para formar amoniaco y ácido pirúvico. Los grupos amino extraídos se canalizan mediante una reacción de transaminación a la formación de ácido glutámico, el cual puede ser desaminado y producir amoniaco (NH_3), siendo éste el producto final del catabolismo de los aminoácidos (Hill, 2021) (Figura 7).

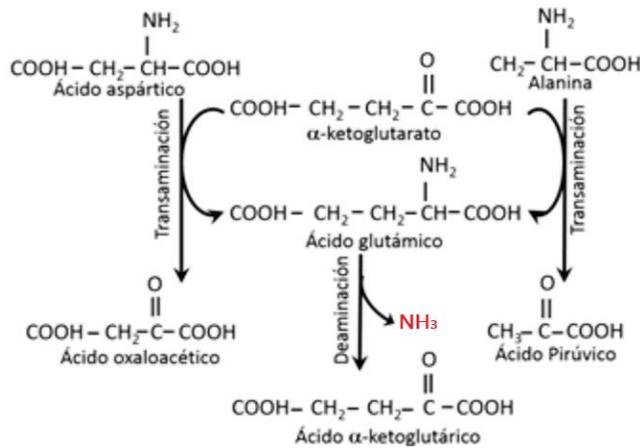


Fig. 7. Ciclo del α-Cetoglutarato en donde se señalan algunas vías del metabolismo de aminoácidos para la producción final de amoníaco (modificado de Hill, 2021).

El amoníaco (NH₃) puede moverse a través de proteínas llamadas “Proteínas Rhesus” (Rh), ubicadas en las membranas branquiales. Este transporte es por difusión pasiva, favorecido por el acople a transportadores de tipo activo que mueve las moléculas de NH₄⁺ a través de la membrana, actuando en conjunto como un metabolon favoreciendo la excreción apical del amonio (Yan y Hwang, 2019; Ortiz et al., 2011; Ip y Chew, 2010; Weihs et al., 2009; Wright y Wood, 2009; Ortiz et al., 2006). Entre los grupos de la familia Rh se han identificado RhAG, RhBG y RhCG que tienen la capacidad de transportar amoníaco y se encuentran presentes en la mayoría de los vertebrados en las branquias. Se ha identificado que isoformas de RhCG parecen tener la expresión de ARNm más fuerte en las branquias, riñón y la piel, mientras que el ARNm de RhBG está distribuido ampliamente en el cerebro, hígado, músculo, bazo, riñón, eritrocitos y la piel (Wright y Wood, 2009).

El transporte del amonio (NH₄⁺) y amoníaco (NH₃) es regulado por células denominadas ionocitos, las cuales participan en los mecanismos de intercambio iónico en las células. Este tipo de células se han identificado en las branquias de algunas especies modelo como el pez cebra (*Danio rerio*) y se han caracterizado células ricas en Na⁺K⁺-ATPasa (HR) que se encargan de la captación de Na⁺, secreción de H⁺ y excreción de NH₄⁺ (Yan y Hwang, 2019) (Figura 8).

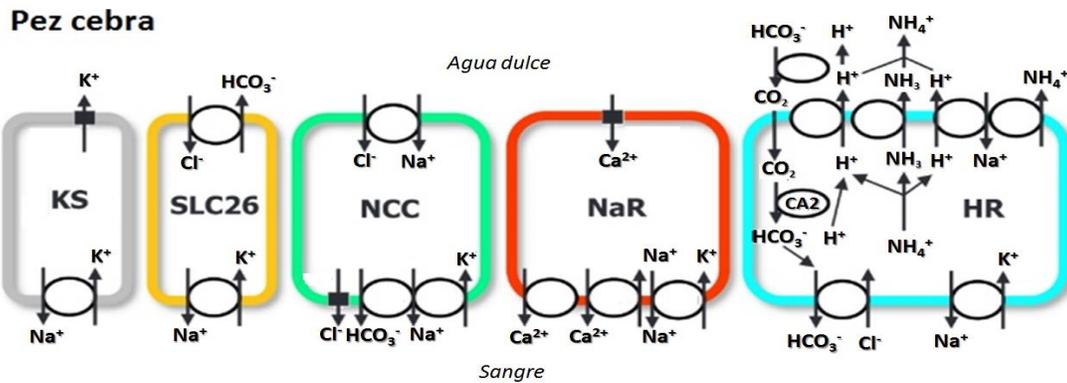


Fig. 8. Ionocitos implicados en el transporte iónico del amonio (NH_4^+) en el pez cebra (*Danio rerio*) (reproducido de Yan y Hwang, 2019).

Estos mecanismos de excreción del amonio (NH_4^+ y NH_3) también se han propuesto en crustáceos dulceacuícolas (Weihrauch et al, 2008) y se postula que los mismos mecanismos operan en anfibios acuáticos dulceacuícolas (Méndez-Narváez y Warkentin, 2022; Wells, 2007).

3. Efectos antrópicos en el Ciclo del Nitrógeno

Se ha reportado que, debido al incremento de las actividades antrópicas durante las últimas décadas, el ciclo global del nitrógeno se encuentra en constante modificación por el incremento en su disponibilidad y movilidad en diferentes regiones del planeta. A pesar de que el nitrógeno es vital para muchos procesos ecológicos, el incremento de sus concentraciones en adición a sus fuentes naturales ha ocasionado alteraciones en los ecosistemas con efectos adversos en la biota acuática (Mosley et al., 2022; Madigan et al. 2006).

Se han identificado diversas fuentes derivadas de las actividades humanas que magnifican las concentraciones de los compuestos nitrogenados (amonio, nitrito y nitrato): los aportes de fertilizantes químicos (i.e. nitrato amónico y urea), los residuos agrícolas y ganaderos (amoniaco y nitrito) y los vertidos industriales y de aguas residuales (amoniaco y nitrito) (Meza-Gonzales et al., 2022; Cervantes, 2009). Estos compuestos son transferidos por difusión o por procesos de bio-

perturbación hacia las aguas subyacentes, modificando su distribución en el medio acuático (Ferrara-Guerrero et al., 2014).

Los residuos de materia orgánica (MO) son otra fuente importante que incrementa la concentración de los compuestos nitrogenados durante el proceso de mineralización (proceso encargado de la descomposición de MO depositada en la capa superficial de los sedimentos), que realizan los microorganismos heterótrofos (Figura 9).

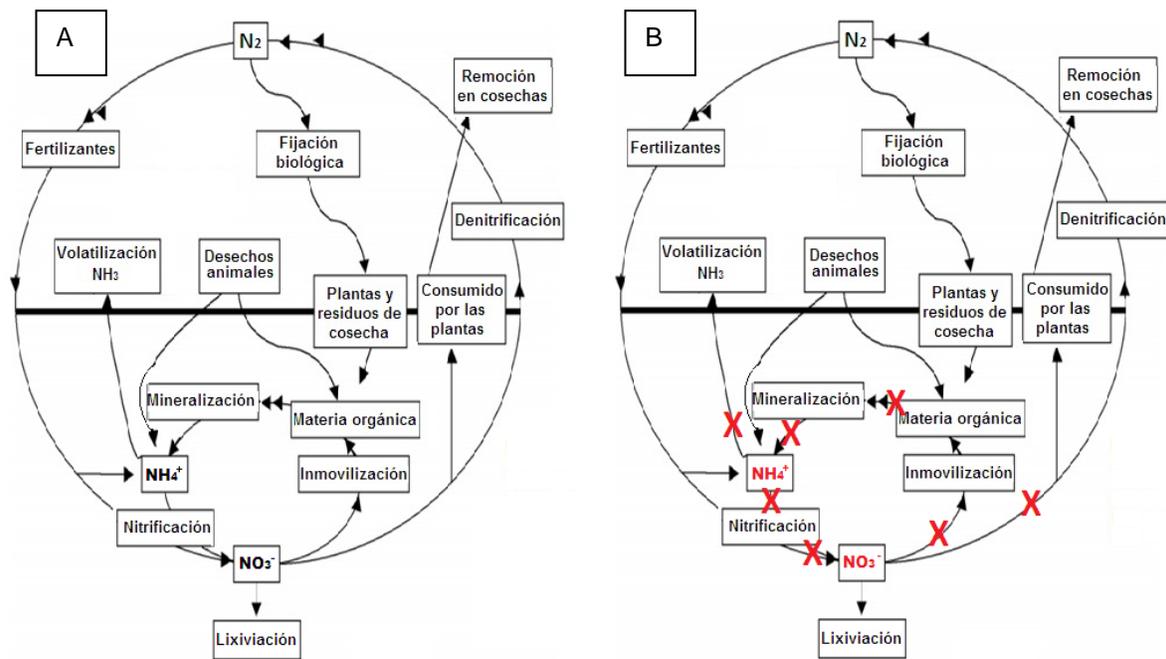


Fig. 9. Esquema del ciclo del nitrógeno y fuentes de contaminación antrópica que incrementan las concentraciones de compuestos nitrogenados en los sistemas acuáticos (A) y alteran procesos relacionados con el ciclo del nitrógeno (B) (reproducción modificada de Elizondo-Salazar, 2006).

Se ha reportado que el incremento de las concentraciones de compuestos nitrogenados en los sistemas acuáticos puede conducir a diversos problemas ambientales:

- Disminución del pH. Se acidifican los cuerpos de agua con la formación de compuestos como el dióxido de nitrógeno (NO_2), el óxido de nitrógeno (NO) y el amonio (NH_4^+). Los efectos por la acidificación se observan en la disminución de la actividad fotosintética de algas planctónicas, pérdida de especies de comunidades fitoplanctónicas y en la bioacumulación de

compuestos nitrogenados que conlleva a efectos tóxicos en los organismos acuáticos (Moiseenko, 2022; De Vries, 2021; Camargo y Alonso, 2007).

- Enriquecimiento y proliferación de productores primarios (fitoplancton, algas bentónicas, macrófitas). Esto resulta en un problema de cambio trófico como la eutrofización, lo que a su vez conduce a un incremento de la biomasa, disminución de la transparencia del agua y de los niveles de oxígeno (Moiseenko, 2022; De Vries, 2021; Arana et al., 2017).
- Toxicidad en organismos acuáticos. La exposición aguda a elevadas concentraciones de compuestos nitrogenados ocasiona la mortalidad de los organismos. No obstante, la exposición crónica en bajas concentraciones subletales ocasiona efectos adversos a diversos niveles como daños en el epitelio branquial, efectos neurotóxicos, estrés oxidante, represión del sistema inmune, mayor susceptibilidad a enfermedades cuya última instancia afecta su desarrollo, reproducción y supervivencia (De Vries, 2021; Morrissy et al., 2021; Deng et al., 2017; Shinn et al., 2008).

4. Toxicidad de los compuestos nitrogenados en organismos acuáticos dulceacuícolas.

Los organismos acuáticos son altamente sensibles al efecto tóxico de los compuestos nitrogenados debido a que son incorporados fácilmente al medio interno a través de sus superficies permeables. En cuerpos de agua con elevadas concentraciones de estos compuestos, las alteraciones registradas en el crecimiento, reproducción y supervivencia de las especies expuestas repercuten a su vez en pérdida de la biodiversidad y alteraciones de la dinámica trófica de los ecosistemas (Valencia-Castañeda et al., 2019; Egea-Serrano et al., 2009; Ortiz et al., 2004). Diversos estudios en organismos acuáticos demuestran que, en lo general, la toxicidad de los compuestos nitrogenados es en el orden de amonio > nitrito > nitrato (Daam et al., 2020; Kim et al., 2019; Ilha y Schiesari, 2014; Schram et al., 2014; Mendoza, 2009).

4.1 Amonio (NH_4^+ y NH_3)

Más del 95% del amonio existe como NH_4^+ en el citosol y el plasma de organismos acuáticos. Una vez en el plasma el amonio puede distribuirse a otras partes del cuerpo y acumularse, afectando a distintos procesos celulares (Ip y Chew, 2010). Se han identificado diversos efectos tóxicos en organismos acuáticos expuestos a altas concentraciones de amonio en su medio ya que ambas formas químicas (NH_4^+ y NH_3) al ingresar a las células pueden alterar el pH del citosol y/o de los organelos y ocasionar un desbalance en los gradientes electroquímicos ocasionando daño oxidativo/nitrosativo. Este desbalance iónico conduce a una inhibición de las reacciones enzimáticas que modifica los procesos intracelulares como acidosis progresiva, supresión del ciclo de Krebs, inhibición en la producción de ATP y una inhibición de los procesos de endocitosis y exocitosis (Xu et al., 2021; Park et al., 2018; Chew e Ip, 2017; Nordin y Pommen, 2009; Randall y Tsui, 2002 Martinelle y Häggström, 1993)

Se han identificado diversos efectos tóxicos en organismos acuáticos expuestos a altas concentraciones de amonio en su medio, como daño en el epitelio branquial, disminución del transporte de oxígeno en la sangre, disrupción de la actividad osmorreguladora, represión del sistema inmune con daño en las células de tipo excitables, particularmente en el corazón, el cerebro y en distintos órganos vitales (Xu et al., 2021; Chew e Ip, 2017; Camargo y Alonso, 2007). A nivel organismo, los efectos adversos de ambas formas químicas del amonio (NH_4^+ y NH_3) pueden resultar en una disminución en la actividad de búsqueda de alimento, escape de depredadores, en la reproducción y supervivencia, reduciendo así el tamaño de las poblaciones silvestres de algunos animales acuáticos (Romano y Zeng, 2013; Ortiz-Santaliestra et al., 2012 ; Ortiz-Santaliestra et al., 2010a; Cervantes, 2009).

4.2 Nitrito (NO_2^-)

Los animales acuáticos tienen un alto riesgo de intoxicación por el nitrito ya que estos iones pueden ser incorporados a través de epitelios permeables (branquial y/o cutáneo) y acumular este ion en el plasma de tejidos como branquias, hígado, el cerebro y los músculos (Kroupova et al., 2018). Estudios en peces, anfibios y

crustáceos han revelado que la exposición al nitrito induce una gran variedad de alteraciones bioquímicas y fisiológicas (revisión en Kroupova et al., 2018; Kocour et al., 2018; Jensen, 2003). La acción tóxica del nitrito (NO_2^-) involucra la reducción de los pigmentos respiratorios (i.e hemoglobina, hemocianina) en formas incapaces de transportar y liberar oxígeno a los tejidos, ocasionando hipoxia tisular. Otros efectos tóxicos son la alteración en el transporte de iones branquiales, despolarización de la membrana, alteración de la señalización y función de los neurotransmisores (Cervantes, 2009; Jensen, 2003). Los efectos asociados a la exposición al nitrito incluyen alteraciones endocrinas, reducción de la respuesta inmune, alteración del desarrollo y crecimiento, alteraciones bioquímicas y fisiológicas que pueden conducir a la muerte de los organismos (Kroupova et al., 2018; Kocour et al., 2018). A la vez, la reducción de los pigmentos respiratorios puede derivar en el incremento de la formación de otros compuestos N-nitrosos con propiedades mutagénicas y cancerígenas (Bahadoran et al., 2015).

4.3 Nitrato (NO_3^-)

El nitrato esencialmente no es tóxico, pero al ser incorporado y tener la capacidad de reducirse a nitrito en el medio interno de los organismos acuáticos, ejerce efectos tóxicos similares en el crecimiento y desarrollo de vertebrados e invertebrados (Camargo y Alonso, 2007). No obstante, una vez en el sistema digestivo, el nitrato también puede formar compuestos cancerígenos (N-nitroso) por reacción con aminas y nitritos (Bahadoran et al., 2015; Swann, 1975). También se ha reportado que el nitrato interfiere con la producción, liberación, transporte, metabolismo, acción y/o eliminación de hormonas. Este mecanismo tiene importancia en el mantenimiento de la homeostasis y regulación del proceso de desarrollo de los organismos (Poulsen et al., 2018), como la metamorfosis en los anfibios (Xie et al., 2019). La toxodinámica de los compuestos nitrogenados (amonio, nitrito y nitrato) en organismos acuáticos dulceacuícolas ha sido descrita ampliamente y se señala en el siguiente esquema (Figura 10).

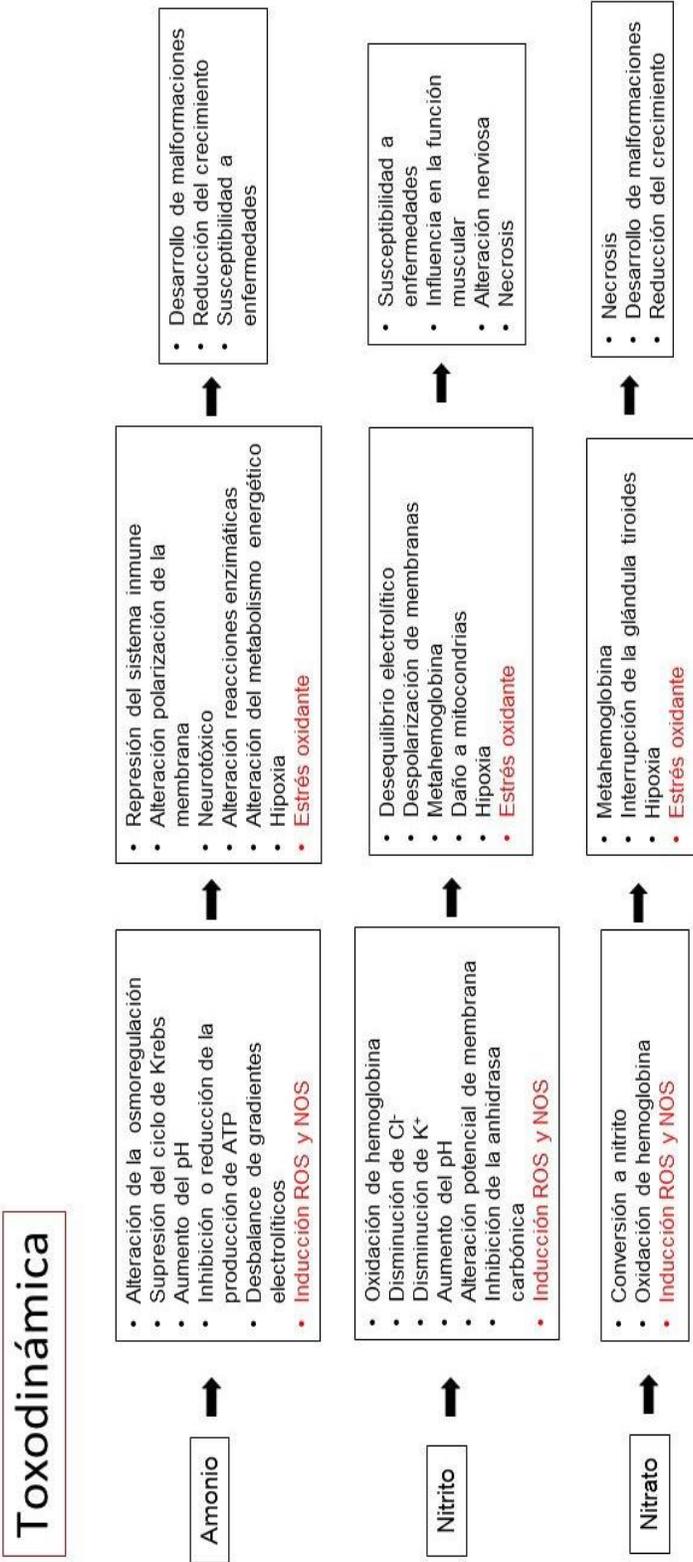


Figura 10. Esquema de la toxodinámica de los compuestos nitrogenados (amonio, nitrito y nitrato) en organismos acuáticos. (creación propia).

5. Problemática ambiental por compuestos nitrogenados en la Zona Lacustre de Xochimilco como sitio de estudio de caso.

5.1 Antecedentes históricos

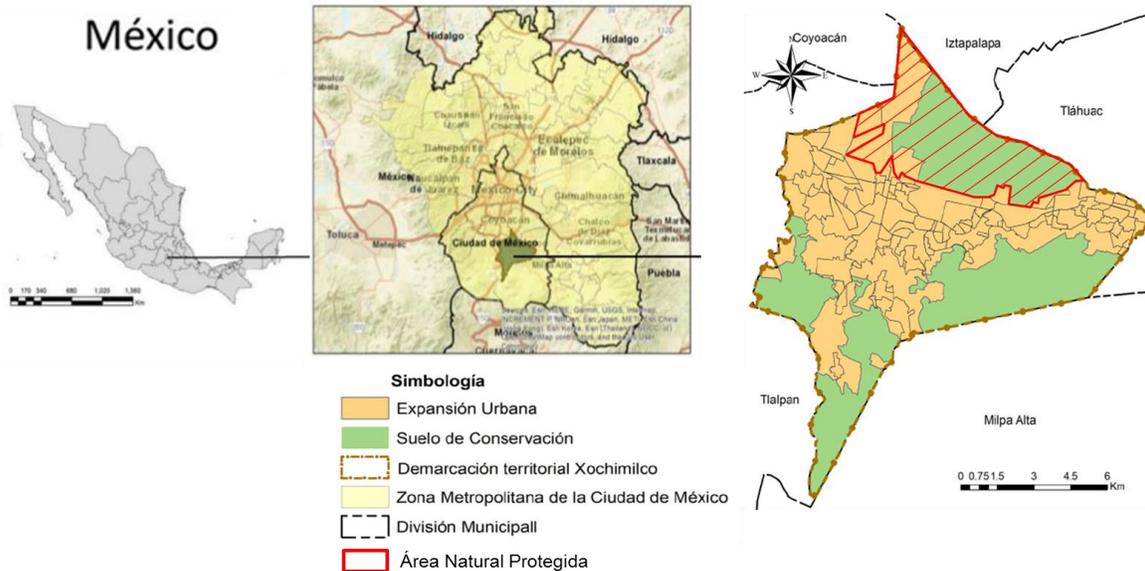


Fig. 11. Localización del área natural protegida “Ejidos de Xochimilco y San Gregorio Atlapulco”, Xochimilco, México (modificado de Pérez et al., 2019).

El Área Natural Protegida (ANP) “Ejidos de Xochimilco y San Gregorio Atlapulco” se localiza en el noreste de la Delegación Política de Xochimilco, al sureste de la Ciudad de México. Las coordenadas geográficas son $19^{\circ} 15' 11''$ y $19^{\circ} 19' 15''$ de latitud Norte y $99^{\circ} 00' 58''$ y $99^{\circ} 07' 08''$ de longitud Oeste. Esta zona se encuentra delimitada en un polígono con una superficie de 2,522.43 ha (PAOT, 2009) (Figura 11). El ANP, la zona lacustre agro-urbana de Xochimilco, constituye un sistema acuático complejo de canales y lagos someros con un área aproximada de unos 10 km² (Arana et al., 2017). Forma parte de los cuerpos de agua remanentes de la cuenca endorreica del Valle de México, integrada por cinco lagos, lago Zumpango, Xaltocan, Texcoco, Xochimilco y Chalco. Los lagos de Xochimilco y Chalco fueron los principales sitios en donde los pobladores utilizaron los sedimentos del lago para crear islas denominadas "chinampas" (Soria, 2004). Durante 1519 a 1521 se concibió como una forma de producción agrícola (cultivo de verduras y hortalizas),

con fines de autoconsumo y producción de excedentes para su intercambio o comercialización (Zambrano et al., 2020; Mendoza, 2018).

Se estima que las primeras chinampas se construyeron hace casi cuatro mil años dando inicio al sistema agro-ecológico chinampero (Arana et al., 2017; Ponce de León et al., 2017). Como agroecosistema, la chinampa es considerada uno de los modelos agrícolas más antiguos, productivos y sustentables, capaz de producir varias cosechas al año de diversos cultivos principalmente de verduras, frutas y flores para el autoconsumo y la venta (Von Bertrab, 2013). A principios del siglo XVI se documentaron cerca de 100,000 chinampas con una superficie aproximada de 1500 km² (Izazola, 2001; Rojas, 1991), siendo Xochimilco la región con mayor actividad agrícola de toda la cuenca de México (Peralta, 2012).



Fig. 12. Aves migratorias en el Parque Ecológico de Xochimilco (foto propia, enero 2022).

En la actualidad, el sistema lacustre remanente provee diversos servicios ecosistémicos. Regula la temperatura del ambiente durante diferentes épocas del año a través del agua que contienen los canales. A la vez, tanto el agua como las chinampas reducen la cantidad de luz que se refleja a la atmósfera (efecto de albedo) funcionando como un regulador climático para la zona. El sistema lacustre también constituye un refugio tanto de especies endémicas como de aves migratorias. Al menos 140 especies de aves habitan este humedal, incluyendo aves migratorias de invierno que se reproducen en Xochimilco y otras especies de animales (Figura 12). Se reporta una producción de hasta tres ciclos a lo largo de un año en las chinampas, debido a que los suelos contienen un alto contenido de

materia orgánica y nutrientes que permiten el cultivo de hortalizas, flores y plantas de ornato (Hiriart y Gonzales, 2016).

Por las características culturales y ecológicas de Xochimilco, el centro histórico, la zona agro-chinampera y la zona lacustre de Xochimilco, en 1987 recibió el reconocimiento de Patrimonio Cultural y Natural de la Humanidad. Posteriormente en 1992 se decretó como Área Natural Protegida por la UNESCO (por sus siglas en inglés; Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura), lo que reconoce su importancia a nivel nacional y le otorga protección. Este nombramiento se decretó como “Área Natural Protegida Ejidos de Xochimilco y San Gregorio Atlapulco” (GOF, 2006; Ponce de León et al., 2017) por la Convención Internacional sobre Humedales Ramsar, registrando su relevancia internacional como un humedal de alta importancia por todos los servicios que provee (Arana et al., 2017; Vanegas et al., 2017; CONANP, 2004).

La Zona Lacustre de Xochimilco constituye una importante zona de captación de agua para la recarga del acuífero de la cuenca del Valle de México, por lo cual fue utilizada como fuente de abastecimiento de agua potable para la ciudad a partir de 1905. No obstante, debido al incremento de la población en la Ciudad de México y a la deficiente distribución de agua a nivel urbano, hubo una consecuente disminución de agua en los canales. Esto repercutió en el desecamiento de la zona lacustre, lo que a su vez conllevó a problemas de hundimiento de terreno de la zona. Esta situación llevó a decretar la suspensión de la perforación de pozos en 1954, más no a la extracción de agua de los pozos existentes (Arana et al., 2017; Ponce de León, et al., 2017; Izazola, 2001).

Para regular los niveles de agua y conservar el acuífero, en 1957 se inicia la introducción de las aguas residuales del Río Churubusco al área lacustre, lo cual ocasionó la desaparición de numerosas especies. El lirio acuático, introducido a finales del siglo XIX, comienza a proliferar en el cuerpo de agua y la agricultura comienza a deteriorarse. Posteriormente, en 1959 se aprueba la introducción de

aguas residuales de la Ciudad de México a los canales para complementar de forma artificial la recarga del acuífero, lo que conlleva a incrementar la contaminación del cuerpo de agua (Ponce de León, 2017; Ángeles-Serrano et al., 2008; Zambrano, 2007; Terrones, 2006).

Ante la evidencia del inadecuado manejo hídrico en la Ciudad de México, a partir de 1956 se inicia el tratamiento del agua residual urbana con el fin de utilizarla en actividades industriales, el riego de áreas verdes y para el llenado de lagos recreativos (Izazola, 2001). En 1971 entra en operación la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) "Cerro de la Estrella". Posteriormente en 1979 se introduce el agua residual proveniente de la PTAR de "San Luis Tlaxialtemalco". para incrementar los niveles de agua de los canales en Tláhuac y para uso agrícola en Xochimilco (Zambrano, 2007; Terrones, 2006).

En los años 70's la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (conocida como FAO) promueve un programa para la introducción de carpas (*Cyprinus carpio*) y tilapias (*Oreochromis niloticus*) en los canales de Xochimilco para fomentar el comercio y la pesca como una importante fuente de alimento e ingresos económicos por los habitantes locales (Von Bertrab, 2013). Sin embargo, ello condujo a la modificación de las redes tróficas del sistema acuático por la competencia, desplazamiento y depredación de las especies nativas como el ajolote *Ambystoma mexicanum* (Piñon-Flores et al., 2021; Chaparro-Herrera et al., 2020; Zambrano et al., 2010).

A finales de los años 80, se inicia un proyecto integral para intentar revertir el deterioro ambiental y mejorar las condiciones de vida de los habitantes de la zona. Dentro de este marco se inscribe el "Parque Ecológico de Xochimilco" (PEX) cuyos objetivos fueron dar solución a la degradación del ambiente por la pérdida de chinampas y zonas de cultivo ante la expansión urbana en Xochimilco, disminuir el incremento de contaminación en los cuerpos de agua con aguas negras de mala

calidad, la deforestación de la zona y la pérdida progresiva de los niveles de agua (Soria, 2004).

5.2 Problemática ambiental por el aporte de contaminantes

La ausencia de regulaciones ambientales para el manejo adecuado del sistema, ha favorecido el aporte de múltiples contaminantes en la zona Lacustre de Xochimilco (Jimenez et al., 2020). La extracción inmoderada de agua y en su sustitución, la introducción de agua con múltiples contaminantes proveniente de las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales de Cerro de la Estrella, en mayor medida, y de San Luis Tlaxiátemanco y San Lorenzo; ha sido uno de los principales factores asociados al deterioro estructural y funcional del sistema lacustre de Xochimilco. Aunado a la expansión de la mancha urbana, las descargas domiciliarias y comerciales directas y difusas, así como la tecnificación de la agricultura tradicional con el aporte de agroquímicos, ha conllevado el incremento de residuos orgánicos e inorgánicos en el sistema acuático (Arana et al., 2017; Merlín-Urbe et al., 2012; Angeles-Serrano et al., 2008). Esto ha conducido a la acumulación de contaminantes como metales, pesticidas, fertilizantes, fármacos, detergentes, grasas y aceites, materia orgánica de origen agrícola y urbano, microorganismos patógenos y compuestos nitrogenados en la zona lacustre (Jimenez et al., 2020; Zambrano et al., 2018; Vanegas et al., 2017; Alcantara et al., 2013; Merlín-Urbe et al., 2012).

Meza-Gonzales et al. (2022) realizaron un estudio en el humedal de Xochimilco-San Gregorio Centro cerca de zonas de impacto agrícola, influencia urbana y zona de descarga de agua tratada, para identificar las principales fuentes de aportes de contaminantes orgánicos y se clasificaron en cinco categorías:

- Doméstico-Urbano: sustancias como cosméticos, productos de cuidado personal, medicinas, desechos como comida, grasas y aceites, detergentes y materia orgánica.
- Industrial: Desechos farmacéuticos, químicos, petroquímicos, solventes y plastificantes.

- Agroquímicos: Pesticidas, herbicidas, fungicidas.
- Degradación: Subproductos de pesticidas, detergentes, etc.
- Otros: Desconocidos, metabolitos de origen vegetal.

La presencia y permanencia de estos contaminantes no sólo alteran el crecimiento y la supervivencia de los organismos por su impacto negativo en las tramas tróficas, sino que también pueden modificar la estabilidad de los ciclos biogeoquímicos en el sistema (Arana et al., 2017; Ferrera-Guerrero et al., 2014).

La invasión de macrófitas como el caso del lirio *Eichhornia crassipes*, reduce el intercambio de oxígeno con la atmósfera lo que aunado al incremento de la materia orgánica en el sistema y al limitado flujo de agua en los canales, favorece la reducción del oxígeno disuelto en el sistema generando zonas de hipoxia y anoxia. A su vez, esto altera la dinámica funcional de poblaciones de bacterias heterótrofas responsables de los procesos de degradación y mineralización de la materia orgánica (y de compuestos nitrogenados), favoreciendo la proliferación de bacterias anaerobias que producen gases como el metano y el ácido sulfúrico. Estas modificaciones en consecuencia alteran los ciclos biogeoquímicos relevantes como del C y N (Ponce de León et al., 2017; Vanegas et al., 2017) (Figura 13).



Fig. 13. Crecimiento del lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) e invasión en los canales de la Zona lacustre de Xochimilco (Foto propia, diciembre 2021).

El comportamiento de la materia orgánica en el sistema lacustre de Xochimilco es complejo y está influenciado por numerosas variables. Una fuente endógena que incrementa la materia orgánica en los canales está relacionada con la elevada densidad poblacional de la tilapia y la carpa. El comportamiento reproductivo de la

tilapia consiste en excavar los bordes de los canales, afectando la integridad de las chinampas e incrementando el aporte de partículas suspendidas al sistema. Por otro lado, ambas especies incrementan la materia orgánica en el sistema por la excreción de heces, aunado al aporte de amonio como producto de excreción nitrogenada (Ponce de Leon, 2017; Zambrano e Hinojosa, 1999). La capacidad de sorción de la materia orgánica en los sistemas acuáticos le confiere características que le permite modular el comportamiento, la dispersión e inmovilización de sustancias tóxicas. También puede promover la formación de otros subproductos tóxicos como los compuestos nitrogenados, repercutiendo directamente en su bioactividad, persistencia y degradación (Vanegas et al., 2017; Weil y Madoff, 2005; Steinberg et al., 2003).

5.3 Compuestos nitrogenados en la Zona Lacustre de Xochimilco

En la zona chinampera de Xochimilco la aplicación de fertilizantes nitrogenados y la adición de abonos orgánicos a los suelos de las chinampas es una práctica común para proveer nutrientes e incrementar la producción agrícola (Vanegas et al., 2017). Sin embargo, se ha estimado que del 30 al 40% del nitrógeno aplicado a través de los fertilizantes y abonos orgánicos es perdido por la escorrentía y lixiviación de los suelos y son depositados en los cuerpos de agua adyacentes, ocasionando el enriquecimiento de materia orgánica y, eventualmente, la alteración de su estado trófico (Chao y Chao, 1997; Zhang, 1981).

En estudios recientes realizados en 2017 (Vanegas et al., 2017) y 2021 (datos sin publicar; PAPIIT IN2116621) se determinaron las concentraciones de compuestos nitrogenados (amonio total N-AT mg/L, nitrito N-NO₂⁻ mg/L y nitrato N-NO₃⁻ mg/L) en la Zona Centro del área lacustre de Xochimilco en una red de 53 sitios de muestreo. De acuerdo a las actividades agrícolas que se realizan y al impacto urbano en el área de muestreo se estableció la siguiente zonación: ZU: Zona de impacto urbano; ZCH: Zona chinampera de cultivo tradicional mayoritario; ZCHT: Zona chinampera de transición (cambio de uso de suelo); ZI: Zona de Invernaderos

en crecimiento y ZH: Zona de Humedales. En este último, se incluyen los sitios de muestreo realizados en el Parque Ecológico de Xochimilco (PEX) (Figura 14).

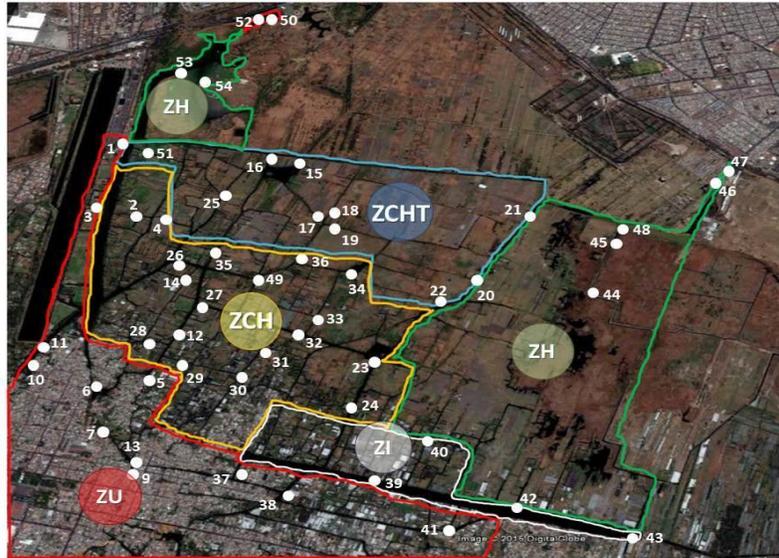


Fig. 14. Zonación de la zona lacustre de Xochimilco en relación a las actividades agrícolas y al impacto urbano: ZU: Zona Urbana; ZH: Zona de Humedal; ZCHT: Zona Chinampera de transición; ZCH: Zona Chinampera; ZI: Zona de Invernaderos. Los puntos blancos señalan los sitios de muestreo (Vanegas et al., 2017).

Los resultados obtenidos denotan que, tanto en 2017 como en 2021, las mayores concentraciones de amonio, nitrito y nitrato se registraron en la Zona Urbana, sobrepasando los Niveles Máximos Permisibles para la Vida Acuática (NMPVA) (Nordin y Pommen, 2009). El segundo sitio con mayor impacto por compuestos nitrogenados es la Zona Chinampera, posiblemente debido al uso intensivo de fertilizantes y agroquímicos nitrogenados aplicados en los suelos de las chinampas para las prácticas agrícolas, aunado al impacto indirecto de la zona urbana, dada su cercanía. Por otro lado, en estos sitios se registraron niveles de hipoxia y de anoxia en los canales, lo cual podría incidir en la alteración de la degradación aerobia de los compuestos nitrogenados, favoreciendo su acumulación. En la Zona Chinampera de Transición y la Zona de Humedales se observaron concentraciones por debajo del NMPVA de amonio y nitrato en la mayoría de los sitios de muestreo. Estos sitios también coinciden en ser zonas más lejanas a la urbanización y de las actividades agrícolas, por lo que es posible suponer que hay una mayor probabilidad

de la presencia de organismos acuáticos sensibles a contaminantes como el ajolote *Ambystoma mexicanum* (PAPIIT IN216621, datos no publicados; Vanegas et al., 2017) (Tabla 1; Anexo 1).

Tabla 1. Valores mínimo y máximo de las concentraciones de compuestos nitrogenados (amonio, nitrito y nitrato) en las zonas de muestreo del sistema lacustre de Xochimilco realizados en 2017 (Vanegas et al., 2017) y 2021 (datos sin publicar; PAPIIT IN2116621). Los niveles máximos permisibles para la vida acuática de cada compuesto nitrogenado (NMPVA) se estimaron considerando el pH y la temperatura de los sitios de muestreo (Nordin y Pommen, 2009).

	N-AT, mg/L		N-NO ₂ ⁻ , mg/L		N-NO ₃ ⁻ , mg/L	
	2017	2021	2017	2021	2017	2021
Zona Urbana (N ₂₀₁₇ = 12 ; N ₂₀₂₁ = 12)	0.17–11.3	0.25–5.98	0.01–3.16	0.06–0.49	0.09–8.52	0.50- 25.0
Zona de Humedales (N ₂₀₁₇ = 6 ; N ₂₀₂₁ = 5)	0.99–1.60	0.12–1.51	LD–0.06	0.06–0.15	0.04–1.37	1.10–1.70
Zona Chinampera (N ₂₀₁₇ = 16 ; N ₂₀₂₁ = 17)	0.03–5.93	0.12–1.50	0.13–0.97	0.06–0.15	0.05–5.40	0.50–2.24
Zona Chinampera de Transición (N ₂₀₁₇ =10 ; N ₂₀₂₁ = 10)	0.09–1.57	0.10–2.84	0.04–0.18	0.14-0.61	0.02–1.94	0.50–2.60
Zona de Invernaderos (N ₂₀₁₇ = 3 ; N ₂₀₂₁ = 3)	0.58–2.38	0.78–0.82	0.001–0.26	0.06–0.08	0.05–0.07	0.40–1.0
NMPVA. Amonio total: 1.80 mg N-AT/L; Nitrito: 0.02 mg N-NO ₂ ⁻ /L; Nitrato: 3.0 mg N-NO ₃ ⁻ /L						

*En negritas se resaltan los valores mínimos y máximos que sobrepasan los NMPVA del amonio (N-AT/L), nitrito (N-NO₂⁻/L) y nitrato (N-NO₃⁻/L) y se agrega el número de sitios muestreados por zona. (LD: límite de detección de la prueba de cuantificación de nitrito).

La compleja problemática ambiental de la zona lacustre agro-urbana de Xochimilco está ligada al impacto del aporte de descargas de aguas residuales, principalmente de la Planta de Tratamiento Cerro de la Estrella, a los aportes directos de aguas negras domiciliarias, residuos y desechos de materia orgánica a los canales, al

desarrollo urbano no regulado y a los cambios del uso del suelo en las chinampas de una agricultura tradicional a una agricultura tecnificada (Ponce de Leon, 2017; Vanegas et al., 2017). La falta de control de la densidad de especies introducidas, competidoras y depredadoras de las especies nativas, como la carpa y la tilapia, incrementan la carga de materia orgánica y compuestos nitrogenados (fundamentalmente amonio), debido a la excreción nitrogenada y al aporte de heces en el sistema acuático (Chaparro et al., 2020; Zambrano e Hinojosa, 1999). El problema del deterioro de la zona se acentúa al ser un sistema de limitada circulación debido a la distribución de los canales y la construcción de esclusas que impide los flujos continuos de agua y favorece la generación de zonas de hipoxia y anoxia (Ponce de León et al., 2017; Vanegas et al., 2017). Si bien las concentraciones de los compuestos nitrogenados (amonio, nitrito, nitrato) en la zona lacustre de Xochimilco representan un riesgo para las poblaciones de organismos acuáticos, adquiere mayor relevancia en especies de elevada sensibilidad como es el ajolote mexicano *Ambystoma mexicanum*. De allí la importancia de abordar estudios sobre la toxicidad de los compuestos nitrogenados en concentraciones ambientalmente relevantes en los estadios de mayor susceptibilidad de este anfibio urodelo como es el desarrollo embrionario y los estadios larvales.

6. Caso de *Ambystoma mexicanum*

6.1 Biología del Ajolote

Ambystoma mexicanum, comúnmente llamado ajolote, es miembro del orden Urodela (también llamado Caudata) que pertenece a la familia Ambystomatidae. Es una especie endémica de la cuenca del Valle de México y cuya distribución actual ha quedado restringida a la zona lacustre de Xochimilco y Chalco (Zambrano et al., 2007) (Figura 15). Los juveniles y adultos de la especie presentan un cuerpo de piel lisa, poseen patas con cuatro dedos en los miembros anteriores y cinco en los posteriores. La cola es aplanada lateralmente y sus ojos carecen de párpados. Presentan un extraordinario mecanismo de intercambio gaseoso a través de las branquias, los pulmones y la superficie corporal altamente vascularizada. El intercambio de gases se lleva a cabo fundamentalmente a través de los tres pares

de branquias ubicadas a nivel cefálico, aunque la respiración pulmonar puede llegar a proveer del 40 al 60% del oxígeno requerido (Farkas y Monogham, 2015; Gresens, 2004). Aparentemente no hay una clara diferenciación sexual morfológica, sin embargo, dado que las hembras producen una gran cantidad de huevos, suelen ser de mayor tamaño (170-180 g) que los machos (125-130 g). La especie naturalmente es de color café oscuro con numerosas manchas dispersas en todo el cuerpo y la parte inferior es de coloración más clara (Gresens, 2004; Mena y Servín, 2014).



Fig. 15. Ejemplar adulto de *Ambystoma mexicanum* (Voss et al., 2015).

Es una especie neoténica, es decir, no experimenta metamorfosis a menos que sea inducida artificialmente mediante la adición de hormonas tiroideas (TH) en su medio. De tal forma que los adultos son totalmente acuáticos, mantienen las branquias externas y la apariencia morfológica externa “larval” durante toda su vida. Si bien se desconoce la esperanza de vida de los ajolotes en su hábitat natural, se ha estimado que generalmente podrían vivir entre 10 y 15 años (Farkas y Monaghan, 2015; Sámano et La., 2021). En vida libre, la dieta de los ajolotes consiste en materia orgánica, raíces, semillas, hojas de plantas, algas y rotíferos, pequeños crustáceos, insectos, sanguijuelas, caracoles y peces pequeños (Zambrano et al., 2010). En las larvas se ha reportado canibalismo, relacionado con el incremento de la densidad de los organismos en espacios reducidos (Hincapie et al., 2022; Robles-Mendoza et al., 2009).

Los machos alcanzan la madurez sexual alrededor de los 10-12 meses de edad, mientras que las hembras tardan entre 12-18 meses. Durante el cortejo el macho realiza un ritual para atraer a la hembra, al final del cual secreta por la cloaca un espermátforo que contiene los espermatozoides, el cual es absorbido por la cloaca de la hembra para fertilizar los huevos. Por lo general la ovoposición consta de 100 a 600 huevos por puesta, dependiendo de la edad de la hembra (Farkas y Monaghan, 2015; Mena y Servín, 2014). Posterior a la eclosión, continúa el desarrollo de las etapas de larvas a juveniles hasta el desarrollo de los dígitos metatarsianos de los miembros posteriores, aproximadamente 25 días después de la eclosión (Etapa 58) (Nye et al., 2003).

A. mexicanum ha sido ampliamente estudiado debido a la elevada capacidad de regeneración de extremidades y de tejidos como el corazón, pulmones, intestino y mandíbulas y de elementos del sistema nervioso central y periférico (Agudelo et al., 2022). Además, esta especie es un modelo idóneo en la investigación biológica de la evolución y del desarrollo debido al gran tamaño de nidada que pueden producir, a que presentan huevos de gran tamaño, reproducción confiable, aceptación de injertos de tejido embrionario y adulto, a su desarrollo externo y su corto tiempo de maduración sexual y del desarrollo embrionario (Agudelo et al., 2022; Farkas y Monaghan, 2015; Schloissnig et al., 2021).

6.2 Problemática de la especie en peligro de extinción

Las poblaciones de ajolotes (*Ambystoma mexicanum*) prosperaron en los sistemas de canales y humedales de Xochimilco, incluso siendo una fuente de alimento importante para los pobladores originarios, antes de la caída del imperio azteca. No obstante, el deterioro gradual de la calidad de agua asociado al crecimiento urbano no regulado de la Ciudad de México, la extracción inmoderada del agua de los manantiales y subterránea, y la sustitución de las prácticas agrícolas tradicionales por métodos tecnificados, han contribuido al deterioro del hábitat del ajolote y a la reducción significativa de sus poblaciones (Voss et al., 2015). Aunado a lo anterior, la introducción de las especies exóticas carpa (*Cyprinus carpio*) y tilapia

(*Oreochromis niloticus*), competidoras por los mismos sustratos energéticos de los ajolotes y depredadoras de sus huevos y etapas tempranas, ha modificado la trama trófica del sistema acuático y ha tenido un impacto dramático en las poblaciones del ajolote (Alcaraz et al., 2015; Zambrano et al., 2010).

Los lagos urbanos poco profundos como Xochimilco y su ubicación geográfica, los hace también susceptibles de recibir contaminantes por escorrentía, así como arrastres de suelos urbanos, los cuales contribuyen al incremento de partículas suspendidas en la columna de agua. Dadas las características de los sedimentos de los canales y su contenido de materia orgánica, éstos actúan como depósito y reserva de contaminantes, que posteriormente pueden ser liberados a la columna de agua. Al ser *A. mexicanum* un organismo bento-pelágico está expuesto a los múltiples contaminantes acumulados en los sedimentos en la columna de agua, los cuales puede incorporar a través de la ingesta o a través de las superficies permeables corporales (PAPIIT IN216621, datos no publicados; Mendoza, 2009; Meredith y Whiteman, 2008). Adicional a lo anterior, los canales de Xochimilco presentan una alta turbidez por el incremento de partículas suspendidas y el aporte de materia orgánica (algas, detritos) o inorgánica. Esto resulta en una disminución de la penetración de la luz en la columna de agua. En el caso del ajolote, su consumo de presas se ve significativamente afectado al disminuir su capacidad visual como depredador (Chaparro-Herrera et al., 2020).

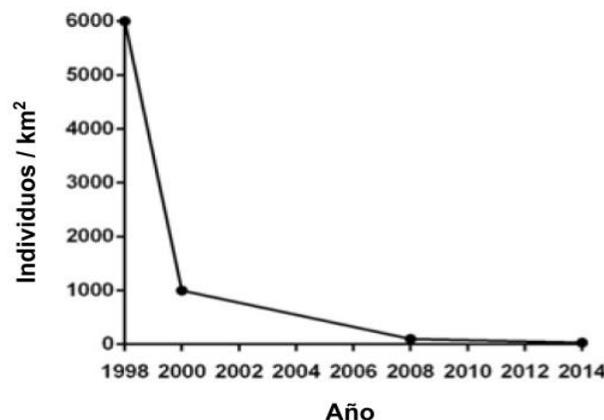


Fig. 16. Declive de las poblaciones de *Ambystoma mexicanum* en el Área natural protegida San Gregorio Atlapulco, Xochimilco (Voss et al., 2015).

Los avistamientos de individuos de la población de *Ambystoma mexicanum* han disminuido significativamente en las últimas décadas. En 1998 se reportaron aproximadamente 6000 individuos/km²; posteriormente en 2004 se redujeron significativamente a 1000 individuos/km²; en 2008 a 100 individuos/km² y en 2009 a tan sólo 0.001 individuos/km². De continuar esta tendencia, se ha estimado a través de un modelo poblacional que para el año 2027 se registraría la extinción total de la especie en su hábitat natural si no se modifican las condiciones de deterioro del mismo (Contreras et al., 2009; Zambrano et al., 2007) (Figura 16). Debido al deterioro crítico que presenta su hábitat y a la reducción significativa de la población de la especie, está considerada en peligro de extinción, sujeta a protección especial por legislaciones nacionales e internacionales (CITES, 2011; DOF, 2002; NOM-059-SEMARNAT-2001).

6.3 Restauración de las poblaciones de *Ambystoma mexicanum*

Se han implementado diversos programas con propuestas de manejo del ajolote que permitan restaurar a la población en su hábitat natural. En 1989 inicia el Plan de Rescate Ecológico de Xochimilco en donde se implementó el proyecto "Conservación del ajolote (*A. mexicanum*) mediante su cultivo y siembra en el Parque Ecológico de Xochimilco". Otro proyecto es el realizado en La Reserva Ecológica del Pedregal de la UNAM, que cuenta con un albergue de ajolotes enfocados en estudiar alternativas que permitan restaurar su población. A la par, existe un Refugio Chinampa, programa desarrollado por investigadores y chinamperos locales que buscan poner en marcha nuevos refugios para ajolotes y restaurar la superficie agrícola de Xochimilco al retornar a la agricultura tradicional (Zambrano et al., 2021; Romero, 2021). Por otro lado, el Centro de Investigaciones Biológicas y Acuícolas de Cuemanco (CIBAC) -registrado como Unidad de Manejo Ambiental- dirigido por la Universidad Autónoma de México sede Xochimilco (UAM-X), es un espacio que se encuentra ubicado dentro del Área Natural Protegida y desde su fundación en 1994 se ha dedicado a la investigación y producción masiva de *Ambystoma mexicanum* con fines de conservación y liberación en áreas

controladas para intentar restablecer las poblaciones en su hábitat natural (UAM, 2016).

También se han implementado programas para reducir las poblaciones de carpa y de tilapia con su extracción, así como promover condiciones favorables en la trama trófica. Sin embargo, no se han obtenido los resultados esperados en los programas implementados, por lo que se propone que es la calidad del agua el factor de mayor importancia y determinante en el establecimiento y la reproducción de las poblaciones de la especie en vida libre (Vanegas et al. 2017; Zambrano et al., 2010).

Sin embargo, a pesar de la vulnerabilidad de *Ambystoma mexicanum* a la contaminación orgánica e inorgánica en su hábitat, los estudios ecotoxicológicos realizados son relativamente reducidos en comparación con otras especies de anfibios como los anuros. Se ha descrito el efecto adverso por la exposición a la radiación UV-B en embriones de *A. mexicanum* (Frías, 2008) y de la exposición subletal a metales como el cadmio en juveniles (Vadillo, 2015; Rodríguez, 2011), a plaguicidas organofosforados tanto en embriones y larvas (Robles et al., 2009) y a sedimentos contaminados con compuestos orgánicos que ejercen daños histopatológicos y estrés oxidante a nivel hepático (Ortiz-Ordoñez et al., 2016). Los estudios que abordan los efectos adversos de compuestos nitrogenados en embriones y larvas de esta especie son aún más limitados (Mendoza, 2009; PAPIIT IN216621, datos no publicados).

CAPÍTULO II: TOXICIDAD DE LOS COMPUESTOS NITROGENADOS EN ANFIBIOS.

7. Anfibios: Especies en riesgo por la contaminación de los sistemas acuáticos.

Los anfibios están representados en tres órdenes: *Anura* (anuros), *Caudata* (urodelos) y *Gymnophiona* (cecílicos). Constituyen el grupo de vertebrados de mayor biomasa en los sistemas forestales y de humedales, y son un componente importante ya que tienen una gran influencia en la estructura y función del ecosistema en el que habitan (Cortéz-Gómez et al., 2015).

7.1 Los anfibios y su importancia en el ecosistema

Los anfibios tienen un complejo ciclo de vida en el cual las etapas de desarrollo ocupan hábitats tanto acuáticos como terrestres. El papel de los anfibios en la trama trófica varía de acuerdo a su etapa de vida. Son predadores tope de invertebrados en los ecosistemas que habitan. Las larvas se alimentan de algas, detritus y otros animales pequeños. Los renacuajos son consumidores primarios y tienen una gran influencia en la estructura de las comunidades algales, en los patrones de producción primaria y en la dinámica de la materia orgánica. Los anfibios adultos son presa de otros depredadores y contribuyen energéticamente en las redes tróficas con la formación de masas de huevos en los ambientes acuáticos. Estos huevos son consumidos por insectos, aves, peces y otros animales acuáticos. Estudios demuestran que la producción primaria, el ciclo de los nutrientes, la descomposición de hojarasca y la población de invertebrados se modifican cuando los anuros y urodelos son removidos o su abundancia es reducida (Wake y Koo, 2018; Whiles et al., 2006).

Las etapas tempranas de desarrollo de los anfibios (embrionaria, larval) habitan cuerpos de agua dulce acuáticos o ambientes hidratados hasta su metamorfosis, cuando se distribuyen en sistemas terrestres, aunque mantienen su dependencia acuática para los procesos reproductivos (Wells, 2007). La excepción lo constituyen anfibios neoténicos, los que a lo largo de su ciclo de vida habitan los sistemas

acuáticos y conservan sus caracteres larvarios, aunque hayan alcanzado la madurez sexual como el urodelo ajolote *Ambystoma mexicanum* o el achoque *Ambystoma taylori* (Percino-Daniel et al., 2016). Por otro lado, hay especies de anuros que, aunque experimentan metamorfosis, son completamente acuáticas como la rana *Xenopus laevis* (Cruz et al., 2013).

7.2 Declive y extinción de poblaciones

La mayoría de las poblaciones de anfibios fluctúan anualmente en tamaño debido a causas como la sequía, temperaturas extremas y/o depredación. Sin embargo, a partir de 1980 numerosos estudios reportan la disminución significativa de poblaciones de diferentes especies de anfibios alrededor del mundo (Egea-Serrano et al., 2012; Collins y Storfer, 2003). Durante las últimas décadas se han registrado estos cambios poblacionales y se han catalogado en la Lista Roja de la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza). En 2008, treinta y cinco especies figuraban en las categorías de Extinto o Extinto en Estado Silvestre; 455 en Peligro Crítico; 768 en Peligro y 670 como Vulnerables (Stuart et al., 2008) (Figura 17). A la fecha, de 8,516 anfibios del planeta identificados (7,523 anuros, 778 urodelos y 215 cecilidos); el 47% se encuentran en peligro de extinción, lo que los convierte en el grupo más amenazado que se haya conocido hasta la fecha en comparación con otros grupos como mamíferos (25%) y aves (14%) (IUCN, 2022)

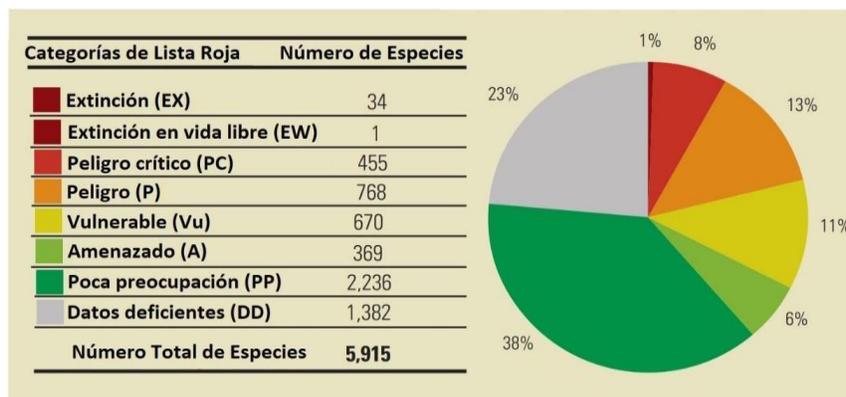


Fig. 17. Categorías de la Lista Roja (UICN) para todas las especies de anfibios (reproducción de Stuart et al., 2008).

Los anfibios están en continua exposición a diferentes estresores que ejercen su efecto adverso desde niveles moleculares a fisiológicos. Estos efectos conllevan a repercusiones a nivel individual, poblacional o ecosistémico (Blaustein et al., 2011). Dada la sensibilidad de los anfibios a estos estresores, son considerados indicadores de la salud ambiental general del ecosistema, y por lo tanto su disminución también podría asociarse como un indicador de amenaza de otras especies (Collins y Storfer, 2003).



Fig. 18. Causas del declive de poblaciones y especies de anfibios a nivel mundial (reproducción de Blaustein et al., 2011).

Dentro de las causas del declive de las poblaciones de anfibios se han identificado diversos factores de estrés asociados con la competencia por recursos, la depredación y la viabilidad de reproducción. Las causas incluyen la disminución y/o destrucción del hábitat y contaminación por agentes químicos (el mayor responsable del declive y extinción de la población de anfibios), la invasión de especies exóticas (incrementa la competencia por recursos y depredación), los cambios globales (alteraciones biogeoquímicas de los ciclos globales, radiación UV-B), las enfermedades infecciosas (principalmente ocasionadas por la quitridiomycosis) y la sobreexplotación de algunas especies en la industria de comida y colección de mascotas (Greenberg y Palen, 2019; Blaustein et al., 2011; Mann et al., 2009; Beebee y Griffiths, 2005; Collins y Storfer, 2003). Sin embargo,

todas estas causas pueden diferir a nivel local y/o regional o entre diferentes poblaciones de la misma especie (Blaustein et al., 2011) (Figura 18).

Los sistemas acuáticos tienen un alto riesgo de exposición a contaminantes ya que se han situado como sitios de descarga y depósito de múltiples sustancias químicas. Estos contaminantes químicos son potencialmente tóxicos, y se han reconocido como una de las principales causas de la transformación de los ambientes acuáticos continentales (Deng et al., 2017; Livingstone, 2003). La contaminación por la aplicación y adición de nutrientes con nitrógeno, es considerada una de las formas más comunes y recurrentes de la degradación de los ecosistemas (Fowler et al., 2013). Durante el siglo XX se ha registrado el mayor impacto en el ciclo global del nitrógeno a causa del desarrollo industrial y la implementación de nuevas técnicas y prácticas agrícolas, que han incrementado el uso de fertilizantes compuestos a base de nitrógeno (NH_4^+). Tan solo de 1960 a 2000, el uso de fertilizantes nitrogenados se incrementó ~800% y se reporta que el trigo, el arroz y el maíz representan alrededor del 50% del uso actual de fertilizantes. Sin embargo, se estima que la eficiencia de fertilizantes nitrogenados es inferior al 40%, lo que significa que la mayoría del N aplicado (principalmente como NH_4^+) se elimina de la zona de las raíces por actividad bacteriana que convierte el amonio (NH_4^+) a amoníaco (NO_3^-). El amoníaco es un ion que tiene mayor movilidad y puede filtrarse a los acuíferos como ríos y lagos, o bien puede transferirse a la atmósfera por medio del proceso de desnitrificación. Este proceso se realiza antes de que los compuestos nitrogenados sean asimilados en biomasa (Canfield et al., 2010).

En los ecosistemas terrestres las actividades antropogénicas como la agricultura, son responsables de la mitad del aporte de nitrógeno a través del uso de fertilizantes. Estos fertilizantes contribuyen al aporte de nitrito y nitrato en las aguas de escorrentía de las tierras agrícolas, así como la emisión de nitrógeno en forma de amoníaco (NH_3) y de óxidos de nitrógeno (NO_x) hacia la atmósfera (Fowler et al., 2013). De tal manera, si bien los fertilizantes nitrogenados ocasionan beneficios en el aumento de la producción agrícola, su incremento en el ambiente ocasiona

impactos severos en la estructura y función de los ecosistemas, como pérdida de la biodiversidad y efectos en el clima (Fowler et al., 2013; Canfield et al., 2010).

En este contexto, la crisis de la biodiversidad de anfibios y la reducción de sus poblaciones se ha relacionado, entre los diversos aspectos mencionados, con la aplicación de contaminantes orgánicos en las actividades agrícolas, asociados fundamentalmente al uso de fertilizantes nitrogenados (Egea-Serrano y Tejedo, 2014; Bishop et al., 2012), así como al aporte de aguas residuales enriquecidas con materia orgánica y compuestos nitrogenados (Vanegas et al., 2017).

7.3 Susceptibilidad de los anfibios a la acción tóxica de los contaminantes en los sistemas acuáticos.

La mayor sensibilidad de los anfibios a los cambios ambientales y a la contaminación acuática obedece a dos aspectos centrales. Primero, debido a su ciclo de vida, ya que muchas especies de anfibios completan su ciclo de vida en ambientes acuáticos y campos agrícolas, sitios en donde se aplican plaguicidas, fertilizantes y otros químicos. Estas aplicaciones a menudo coinciden con el desarrollo de la primera etapa de su ciclo de vida y con los periodos de reproducción y del desarrollo larvario. Durante la segunda etapa de su ciclo de vida, en ambientes terrestres, también experimentan la exposición a tóxicos ambientales. De tal manera, las especies de anfibios que habitan estos ambientes pueden estar expuestos a los efectos tóxicos agudos y crónicos de estos contaminantes durante todo su ciclo de vida (Svartz et al., 2015; Mann et al., 2009; Ortiz-Santaliestra et al., 2006). El segundo factor es debido a la elevada permeabilidad corporal de su piel desnuda, a través de la cual se llevan a cabo los procesos de intercambio de iones, agua y gases con el medio externo. Esto facilita la absorción de los químicos del ambiente en los anfibios. Si bien las larvas realizan el proceso de respiración a través de branquias, también pueden realizar en gran proporción el intercambio de gases respiratorios a través de su piel permeable (60%). Se reconoce que los estadios de huevos y larvas son unas de las etapas más sensibles a la acción tóxica de los contaminantes, a medida que avanza el desarrollo, los pulmones asumen una importancia creciente en la captación de oxígeno, aunque la piel sigue siendo

la principal superficie de intercambio hasta que la metamorfosis es casi completa (Svartz et al., 2015; Wells, 2007; Taylor et al., 1999).

Durante las últimas décadas se ha documentado que cualquier tipo de estrés ambiental puede tener potencial adverso en la biota acuática. No obstante, se considera que los anfibios presentan una mayor vulnerabilidad al tener una elevada permeabilidad cutánea que incrementa la incorporación de agentes tóxicos a sus tejidos, exponiendo a los organismos a condiciones de estrés y daño biológico, siendo las etapas de desarrollo temprano las más sensibles a los efectos tóxicos (Deng et al., 2017; Ilha y Schiesari, 2014; Lushchak, 2011).

Se han descrito dos principales rutas de incorporación de los tóxicos ambientales, incluidos los compuestos nitrogenados, en los organismos acuáticos adultos: por la vía dérmica (a través de las superficies permeables, cutánea y branquial) y por la vía oral a través de la ingestión (Xu et al., 2021; Svartz et al., 2015; Taylor et al., 1999). Los efectos adversos ocasionados por agentes contaminantes pueden incrementarse con la interacción de otros factores como cambios fisicoquímicos (i.e. pH, temperatura, oxígeno disuelto) (Isaza et al., 2020; Mann et al., 2009; Macias et al., 2007). En ambientes con este tipo de escenarios (exposición a tóxicos ambientales y variaciones fisicoquímicas), se han registrado alteraciones en el desarrollo y la supervivencia de la biota residente, lo que a su vez repercute en modificaciones de la dinámica trófica en los ecosistemas y en la pérdida de la biodiversidad (Valencia-Castañeda et al., 2019; Egea-Serrano y Tejedo, 2014).

8. Mecanismos de incorporación celular de los compuestos nitrogenados.

El nitrógeno se encuentra en alta proporción en todos los organismos, aproximadamente el 6.25% corresponde a su masa seca en promedio y se encuentra conformando diferentes moléculas nitrogenadas que se necesitan para sintetizar proteínas, ácidos nucleicos y otros compuestos nitrogenados. Parte del amonio generado es utilizado para una gran variedad de vías biosintéticas, mientras que el exceso es excretado (Chew e Ip, 2017; Bothe et al., 2006; Wilkie, 2002). Sin

embargo, como se mencionó anteriormente el incremento ambiental de compuestos nitrogenados conduce a la incorporación y bioacumulación en los anfibios acuáticos a través de las superficies permeables generando efectos tóxicos en los organismos.

8.1 Amonio (NH_4^+ y NH_3)

Cuando la concentración ambiental de amonio es elevada, los gradientes de difusión de NH_3 y NH_4^+ se invierten del agua (medio externo) a la sangre (medio interno). De modo que en lugar de salir ingresan al medio interno de los organismos acuáticos ocasionando su bioacumulación y al mismo tiempo limitando la excreción normal de los compuestos nitrogenados (Weilhrauch et al., 2009).

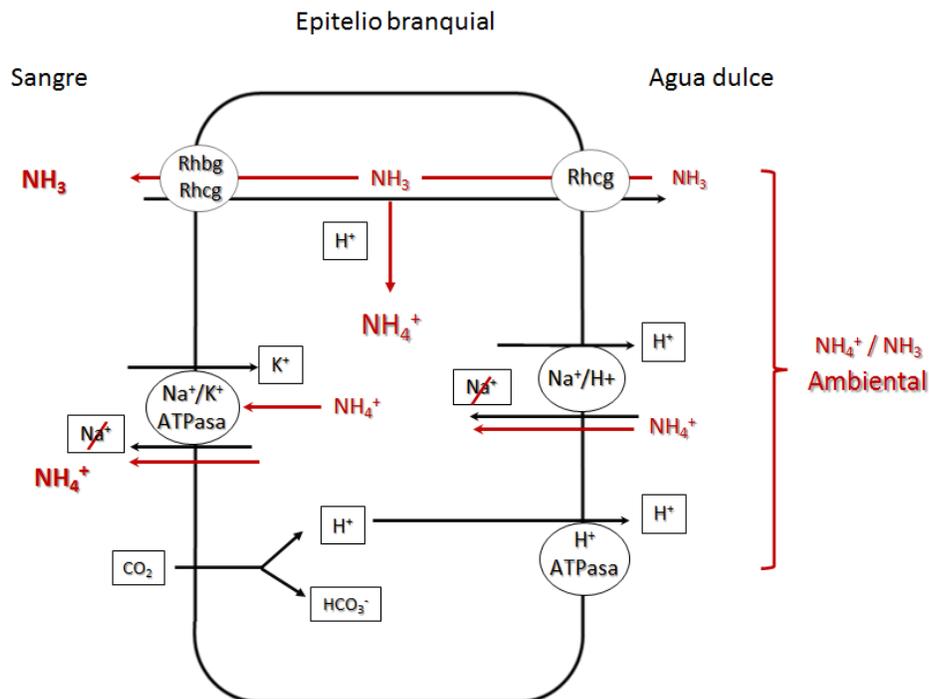


Fig. 19. Mecanismos de entrada del amonio (NH_4^+ y NH_3) en las células. El NH_3 tiene alta capacidad de permeabilidad y la forma de NH_4^+ compite con K^+ , Na^+ y H^+ en los sitios de unión para intercambio iónico intracelular (creación propia; basado en Ip et al., 2010; Wright et al., 2009 y Weilhrauch et al., 2009).

Debido a que el ion de NH_4^+ tiene propiedades iónicas similares a las del K^+ , los iones de NH_4^+ compiten con éstos para ingresar a nivel intracelular a través de los sitios de unión para los iones de K^+ (Ip y Chew, 2010; Martinelle y Häggström, 1993). Además, el transporte NH_4^+ también puede implicar a los intercambiadores Na^+/H^+

(NHE) con NH_4^+ sustituyendo al Na^+ . Por lo tanto, el NH_4^+ sustituye a los iones de H^+ , Na^+ y/o K^+ , ingresando a los tejidos y al medio intracelular de los organismos acuáticos. El incremento del amonio en el medio interno de los organismos (i.e. sangre, hemolinfa) afecta el balance iónico a nivel celular, reduce el flujo de Na^+ y la pérdida de K^+ a través de la sustitución de NH_4^+ por K^+ en la vía de Na^+/K^+ -ATPasa (Xu et al., 2021; Chew e Ip, 2017; Ip et al., 2010) (Figura 19).

8.2 Nitrito (NO_2^-)

Durante el mecanismo de intercambio iónico se excretan protones (H^+), a partir de la hidratación de CO_2 para forman otro protón (H^+) y un ion de bicarbonato (HCO_3^-), creando una fuerza impulsora para la entrada de sodio (Na^+) a través de los canales de sodio. Esta reacción es catalizada por la anhidrasa carbónica (Hill et al., 2012). El HCO_3^- formado sirve como contraión para la absorción de Cl^- a través de un mecanismo de intercambio apical de $\text{Cl}^- / \text{HCO}_3^-$. De esta manera la H^+ -ATPasa energiza la absorción de Cl^- del agua dulce al crear un gradiente favorable para la salida apical de HCO_3^- (Jensen, 2003).

El mecanismo de absorción o ingreso del nitrito (NO_2^-) se lleva a cabo a través de las células branquiales secretoras de cloruro ubicadas en las branquias de los organismos acuáticos. Estas células, entre otras funciones, realizan el intercambio de iones $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ (captación / excreción) entre el organismo y el medio externo a través del intercambiador iónico de H^+ -ATPasa ubicada en la membrana apical de las células epiteliales. Los iones de nitrito (NO_2^-) ingresan a las células epiteliales al actuar como un inhibidor competitivo de la absorción de cloruro (Cl^-) a través de las branquias, por lo que la sensibilidad al nitrito está dada por la alta o baja tasa de absorción de Cl^- (Kroupova et al., 2018; Jensen, 2003) (Figura 20).

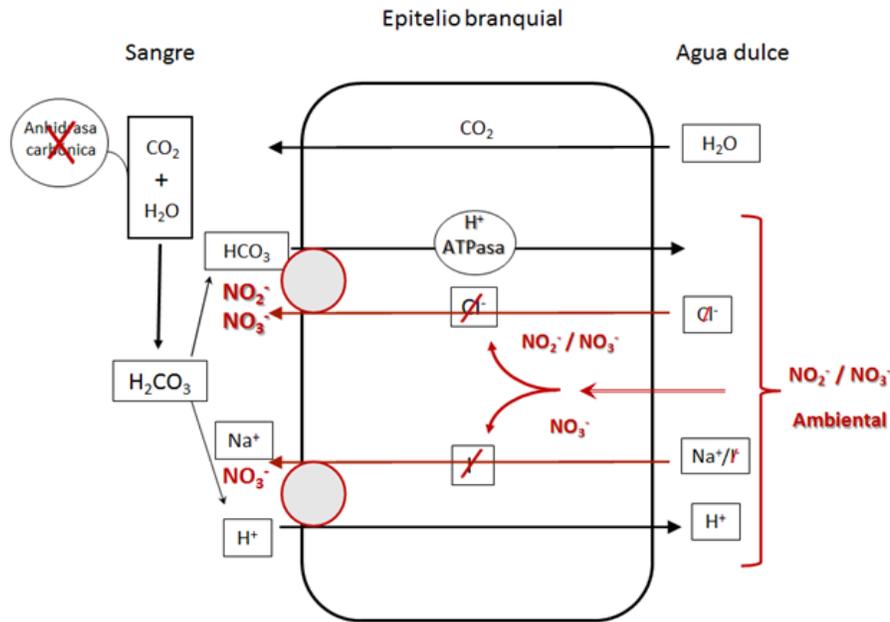


Fig. 20. Mecanismo de absorción de los iones de nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-) a través de las branquias de organismos dulceacuícolas (creación propia; basado en Hill et al., 2012).

8.3 Nitrato (NO_3^-)

Las concentraciones de nitrato en los sistemas acuáticos usualmente son más altos que los de amonio y nitrito. No obstante, la toxicidad directa del nitrato en organismos acuáticos en comparación con los iones de NH_4^+ y NO_2^- es reducida debido a la baja permeabilidad branquial y/o de otros epitelios celulares al NO_3^- (Kroupova et al., 2018). Se ha propuesto que el NO_3^- es un ion con características similares en carga y radio al Cl^- y I^- , por lo que se plantea como una hipótesis probable que la incorporación del NO_3^- ocurre por competencia y sustitución de los iones Cl^- y I^- , alterando sus concentraciones intracelulares. La captación de nitrato (NO_3^-) a través del mecanismo de captación branquial de Cl^- es reducida en comparación con los iones de nitrito (NO_2^-) (Poulsen et al., 2018; Jensen, 1996) (Figura 19).

Para explicar el mecanismo de la discriminación de la absorción de nitrito y nitrato, se proponen varias hipótesis sustentadas en el tamaño de los iones. El radio iónico del nitrato y cloro son similares, mientras que el de nitrito es más pequeño, lo que favorece la entrada de éste en las células. Por otro lado, se propone que la

estructura tridimensional del ion de nitrato pudiera proporcionar un impedimento estérico hacia la unión en los sitios de captación, lo cual no estaría relacionado con el tamaño absoluto del ion sino a la forma de la estructura. Una alternativa a estas hipótesis es que el sitio de absorción de los iones podría tener una carga positiva concentrada a la que sólo se unen iones con alta afinidad hacia la carga negativa concentrada, dado que el nitrato tiene una electronegatividad más dispersa, en comparación con los otros iones, por lo que la tasa de absorción de estos iones es más baja (Jensen, 1996; Cheng et al., 2002). (Figura 21).

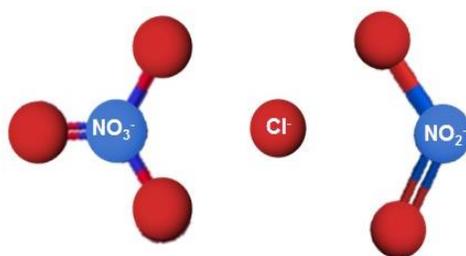


Fig. 21. Representación esquemática de los iones de cloro, nitrito y nitrato (modificado de Lowje, 2023).

Se ha observado que la distribución de contaminantes en los organismos acuáticos como los peces, tienen como destino las branquias, sangre, cerebro, hígado y músculo. Si no se llevan a cabo procesos de desintoxicación, protección celular, excreción o su utilización en los procesos celulares, se bioacumulan en los tejidos ejerciendo su acción tóxica. Los efectos involucran alteraciones desde el nivel bioquímico al fisiológico y conductual, que pueden comprometer su desarrollo y sobrevivencia aún en concentraciones subletales en escenarios de exposición crónica (Xu et al., 2021).

De tal manera, la toxicocinética de tóxicos ambientales como los compuestos nitrogenados (fuentes, incorporación, distribución corporal, excreción y, desintoxicación) determinan en última instancia los efectos biológicos adversos en función de sus mecanismos de acción tóxica (toxodinámica) (Repetto y Repetto, 2009) (Figura 22).

Toxicinética

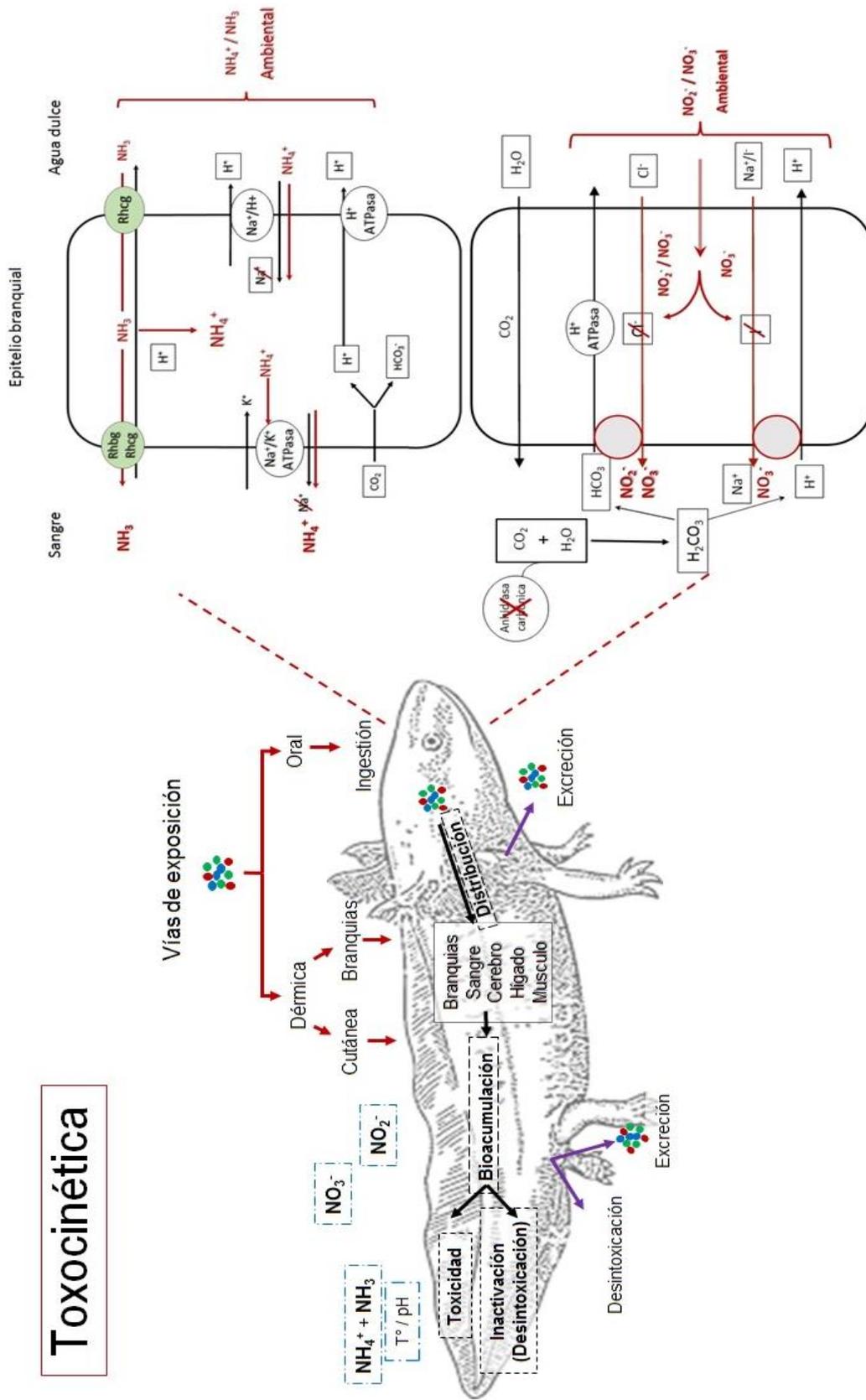


Figura 22. Diagrama de toxicinética de los compuestos nitrogenados en *Amblystoma mexicanum* (creación propia).

9. Estrés Oxidante

Estudios toxicológicos han demostrado que cualquier tipo de estrés ambiental puede alterar el estado redox celular y el balance antioxidante e inducir estrés oxidativo en animales acuáticos. Estas alteraciones pueden ocasionarse por la modificación de parámetros fisicoquímicos (temperatura, concentración de oxígeno, salinidad, etc) o por la presencia de agentes contaminantes como pesticidas, metales pesados y/o compuestos orgánicos (Lushchak, 2016; Bishop et al., 2012; Lushchak, 2011; Hegazi et al., 2010). Por lo tanto, se considera relevante abordar el estrés oxidante como una alteración celular que subyace cualquier condición de estrés en los organismos, incluida la exposición crónica, subletal a tóxicos ambientales como los compuestos nitrogenados cuyo incremento en el medio externo puede conducir a estrés oxidativo/nitrosativo.

9.1 Especies reactivas de oxígeno (ROS)

Los animales requieren oxígeno molecular (O_2) para la oxidación de los alimentos y la generación de energía. Debido al uso de oxígeno como sustrato energético se producen especies reactivas de oxígeno (ROS, “reactive oxygen species” por sus siglas en inglés) de manera regular. Bajo condiciones aerobias, se ha estimado que aproximadamente más del 90% del oxígeno consumido es reducido y usado para la producción de energía en la forma de ATP a través del mecanismo de la cadena de transporte de electrones mitocondrial, sin liberación de ROS. No obstante, cerca del 1 al 3% del oxígeno consumido es reducido por la ruta de un electrón que da lugar a la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Lushchak, 2016; Valko et al., 2007).

La cadena de transporte de electrones mitocondrial genera un gradiente electroquímico para la síntesis de ATP. Este proceso inicia cuando a la molécula de oxígeno se le adiciona un electrón que conduce a la formación del radical anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$); posteriormente se adiciona otro electrón que conduce a la formación del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) mediante la sucesión de reacciones Haber-Weiss y Fenton, el cual se lleva a cabo con la actividad enzimática de superóxido dismutasa (SOD). La reducción de un electrón de H_2O_2 produce el

radical hidroxilo ($\text{OH}\cdot$) y un anión hidroxilo (OH^-). Finalmente, la adición de un electrón y un protón al hidroxilo, genera agua H_2O (Birben et al., 2012; Corrales y Muñoz, 2012; Lushchak, 2011) En la función celular normal, las ROS actúan como mecanismo de defensa contra patógenos y en la señalización celular. Las enzimas Superóxido dismutasa (SOD), Catalasa y Peroxidasa dependiente de glutatión (GPx) forman la primera línea de defensa contra los ROS; mientras que la glutatión reductasa (GR) y la reacción de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) conforman la segunda línea antioxidante. Estos últimos aportan equivalentes reductores del glutatión reducido (GSH) y NADPH que son necesarios para el funcionamiento de la primera línea de defensa. La fuente principal de las enzimas secundarias proviene de rutas metabólicas intermedias (Lushchak, 2016) (Figura 23).

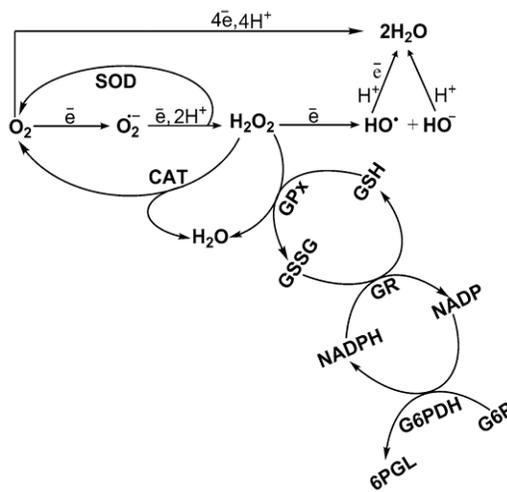


Fig. 23. Ruta de producción de especies reactivas (ROS) y las enzimas antioxidantes (reproducido de Lushchak, 2016).

De estos intermediarios, $\text{O}_2\cdot$ y $\text{OH}\cdot$ poseen electrones desapareados en el último orbital y se denominan por lo tanto radicales libres, mientras que el H_2O_2 no es radical libre, aunque es una molécula oxidante. Las tres especies $\text{O}_2\cdot$, $\text{OH}\cdot$ y H_2O_2 son más reactivos que el oxígeno molecular en el orden: $\text{HO}\cdot > \text{O}_2\cdot > \text{H}_2\text{O}_2$. La mayoría de estos ROS producidos son resultados de electrones que escapan de la cadena de transporte de electrones mitocondrial. De cuatro electrones liberados tres son dirigidos hacia la cadena de transporte de electrones, mientras que el faltante

que escapa produce ROS (Lushchak, 2016). Los ROS tienen diferentes sitios de producción: en el complejo III en la cadena transportadora de electrones de la mitocondria (en donde se produce la mayor cantidad de ROS), por complejos enzimáticos en el ciclo de Krebs, inducción de NADPH oxidasas y por reacción con peroxisomas (Davalli et al., 2016; Han, 2015).

Como moléculas de señalización intracelular realizan funciones críticas y vitales en los organismos al determinar el comportamiento de las células en procesos como la regulación del metabolismo energético, circulación, reproducción y remodelación de células, tejidos y órganos. Sin embargo, por su elevada capacidad oxidante e interacción con diversos componentes celulares, las ROS se mantienen en las células en bajas concentraciones y su producción es controlada y regulada por medio de mecanismos antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos (Prokic et al., 2019; Lushchak, 2016; Lushchak, 2011).

Se han propuesto distintas categorías para describir el sistema antioxidante de ROS, una de ellas basado en la masa molecular y se divide en dos grupos:

- Antioxidantes de bajo peso molecular (con masas moleculares por debajo de un kilodalton): comprende compuestos solubles en agua como el glutatión (oxidado y reducido), el ácido ascórbico (Vitamina C) y compuestos solubles en lípidos como carotenoides, retinol (Vitamina A), tocoferol (Vitamina E) y flavonoides.
- Antioxidantes de alta masa molecular (con masa molecular mayor a 10 kilodaltons): incluyen enzimas antioxidantes que desintoxican directamente ROS y enzimas asociadas que apoyan su función como superóxido dismutasa (SOD), catalasas (CAT), glutatión peroxidasa (GPx)

(Prokic et al., 2019; Lushchak, 2016; Valko et al., 2007).

Dada la capacidad oxidante de los ROS, su incremento a nivel celular puede conducir a la oxidación de lípidos (lipoperoxidación), proteínas (carbonilación) y DNA (formación de aductos); alterando la estructura y función celular que en última

instancia puede conducir a la muerte celular (Lushchak, 2016; Mussi y Calcaterra, 2010) (Figura 24).

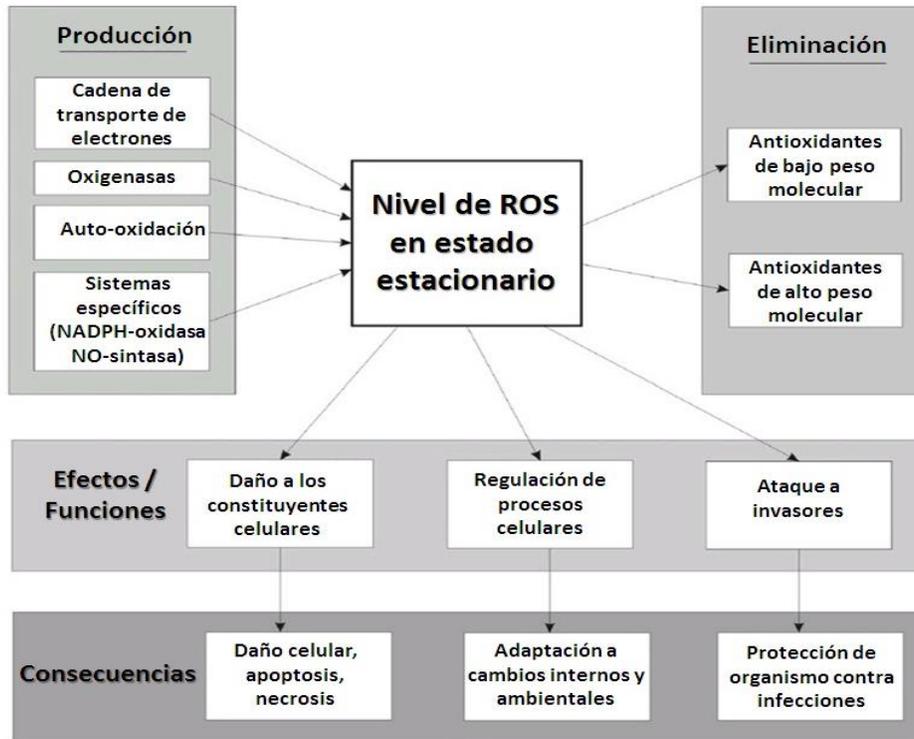


Fig. 24. Balance entre la producción y la eliminación de ROS y sus efectos biológicos potenciales (editado de Lushchak, 2011).

9.2 Especies reactivas de nitrógeno (RNS)

Las especies reactivas de nitrógeno (RNS, "reactive nitrogen species" por sus siglas en inglés), así como las ROS, son productos del metabolismo celular que desempeñan un papel importante dual como especies nocivas y beneficiosas para los organismos (Valko et al., 2007). La formación de RNS inicia con la producción de óxido nítrico ($\text{NO}\cdot$), que es el sustrato principal de las ROS y éste reacciona con el oxígeno para generar peroxinitrito (ONOO^-). Esta reacción se lleva a cabo durante la oxidación de arginina a citrulina durante el ciclo de la urea, actividad que es catalizada por la enzima óxido nítrico sintetasa (ONSi) en el citosol de la membrana mitocondrial (Nelson y Cox, 2014). También se ha reportado que en la membrana de las mitocondrias se produce $\text{NO}\cdot$ independientemente de la vía de conversión de arginina a citrulina (Lacza et al., 2006).

medio extracelular, el $\text{NO}\cdot$ reacciona con el oxígeno y el agua para formar aniones de nitrato y nitrito. A su vez, el nitrito puede reducirse a la forma de $\text{NO}\cdot$ por medio de la actividad de la nitrito reductasa (Lacza, 2006; Valko et al., 2007) (Figura 24).

El óxido nítrico ($\text{NO}\cdot$) es soluble tanto en medios acuosos como lipídicos, por lo que difunde fácilmente a través del citoplasma y las membranas plasmáticas. Se ha reportado que desempeña un papel importante en distintos procesos fisiológicos como la neurotransmisión, circulación, regulación del metabolismo energético, la reproducción de las células y la regulación inmunológica (Gasparovic et al., 2018; Valko et al., 2007). No obstante, cuando ocurre un desequilibrio de la homeostasis redox celular por un exceso tanto en la formación de ROS como RNS, ocasionan estrés oxidativo y nitrosativo en los organismos (Davalli, et al., 2016).

Tanto el $\text{NO}\cdot$ como el ONOO^- pueden inhibir la cadena respiratoria al alterar el potencial de la membrana mitocondrial, lo cual conduce a la fuga de protones mitocondriales, despolarización de la membrana y en consecuencia, la liberación de iniciadores de la apoptosis (Heales y Bolaños, 2002). En condiciones de estrés, el radical superóxido $\text{O}_2\cdot^-$ actúa como oxidante de las enzimas que contienen grupos de hierro y facilitan la producción del radical hidroxilo ($\text{OH}\cdot$). El peroxinitrito puede inducir la oxidación o desaminación del DNA, oxidación y peroxidación de lípidos y tiene la capacidad de reaccionar con residuos de tirosina y conducir a la formación de 3-nitrotirosina, la cual está implicada en trastornos neurológicos (Gasparovic et al., 2018; Heales y Bolaños, 2002). Todas estas condiciones ocasionan alteraciones en los componentes celulares modificando las cascadas reguladoras, lo que conduce a daño y/o muerte celular (Davalli et al., 2016; Lushchak, 2011; Valko et al., 2007).

Los organismos acuáticos contienen elevadas cantidades de lípidos con residuos de ácidos grasos poliinsaturados, un sustrato altamente sensible al daño oxidativo por ROS/RNS. Estas especies reactivas pueden alterar la capa lipídica de la membrana afectando su fluidez y permeabilidad, permitiendo el intercambio iónico de otras sustancias, inactivando receptores, enzimas y alterando los procesos de

expresión génica (Lushchak, 2016; Valko et al., 2007; Scandalios, 2005; Lacza et al., 2006; Valavanidis et al., 2006). Todas estas alteraciones conllevan a malformaciones y a una función anormal de la conducta en los animales durante diferentes etapas de su vida (Prokic et al., 2019; Han, 2015; Rizzo, et al., 2007).

9.3 Estrés oxidativo y nitrosativo por compuestos nitrogenados en organismos acuáticos

En organismos acuáticos se ha estudiado ampliamente la respuesta oxidante y antioxidante por efecto de factores abióticos como la temperatura, la salinidad y el oxígeno disuelto (Said y Nassar, 2022; revisión en Bal et al., 2021), así como el estrés oxidante ocasionado por la exposición a tóxicos ambientales como metales (Ferrandino et al.; 2022; Sgahjahan et al., 2022), pesticidas (Birben, 2012), herbicidas (Burraco y Gomez, 2016), radiación UV-B (Alves y Austin, 2021) y otros contaminantes (revisión en Lushchak, 2016; Livingstone, 2003). Sin embargo, los estudios que abordan la respuesta oxidante por la exposición crónica a compuestos nitrogenados en concentraciones ambientalmente relevantes son escasos (Hegazi et al., 2010) y aún más limitados, los estudios desarrollados en anfibios en etapas tempranas de desarrollo.

En ambientes acuáticos receptores de elevadas concentraciones de amonio, se ha observado que los peces dulceacuícolas bajo exposición crónica a niveles subletales pueden bioacumularlo en sus tejidos, ocasionando efectos como la oxidación de lípidos y proteínas que conllevan a la inactivación de enzimas. Estas alteraciones generan múltiples alteraciones metabólicas como trastornos endocrinos, daño en los tejidos, inestabilidad respiratoria, inmunosupresión e inflamación (Liu et al., 2021; Xu et al., 2021; Hegazi et al., 2010). De igual manera, se ha documentado que la exposición crónica a elevadas concentraciones de nitrito ocasiona estrés oxidante en peces, anfibios anuros, moluscos y crustáceos (Cheng et al., 2020; revisión en Kroupová et al., 2018; revisión en Romano y Zeng, 2013). Por otro lado, el producto de reducción del peroxinitrito (ONOO^-) es el nitrito (NO_2^-) y puede inducir un proceso químico denominado nitración que ocasiona estrés nitrosativo si excede la capacidad del organismo para desnitrar proteínas. Dada la

solubilidad de NO_2^- en medios acuosos y lipídicos, su capacidad oxidante y su fácil difusión a través del citoplasma y las membranas plasmáticas, puede inducir la fragmentación del DNA y carbonilar las proteínas, lo que a menudo conduce a la muerte celular (Gasparovic et al., 2018; Valko et al., 2007).

10. Susceptibilidad de los anfibios durante las primeras etapas de desarrollo.

Como se mencionó previamente, el daño por la exposición a tóxicos ambientales en las poblaciones de anfibios se refleja tanto en la etapa embrionaria y larval acuática, como en la etapa adulta terrestre. Sin embargo, por sus características fisiológicas, los embriones y larvas de anfibios muestran una sensibilidad extrema a los contaminantes acuáticos. Por lo tanto, se considera importante abordar los mecanismos de toxicidad de estos contaminantes y en particular de los compuestos nitrogenados amonio, nitrito, nitrato, durante las primeras etapas de desarrollo de los anfibios.

10.1 Estructura de ovocitos de anfibios

En general, el ciclo de vida de los anfibios inicia con el ovocito que se desarrolla hasta eclosionar en renacuajo o larva. Posteriormente pasa a estadio de juveniles, y éste finalmente se desarrolla en adulto al llevar a cabo la metamorfosis (Rendón, 2010). El desarrollo embrionario se divide en dos etapas: el desarrollo temprano (fecundación, segmentación, blastulación, gastrulación y neurulación) y la organogénesis (Rendón, 2010). Las etapas de desarrollo embrionario son un evento muy importante ya que durante estos procesos se definen las células que darán origen a las estructuras morfológicas de los organismos (Desnitskiy, 2018; Gilbert, 2005), de forma simultánea al desarrollo de los órganos internos y estructuras como las branquias, ojos y boca (Gómez et al., 2016) (Figura 26).

Desarrollo embrionario de *Ambystoma mexicanum*

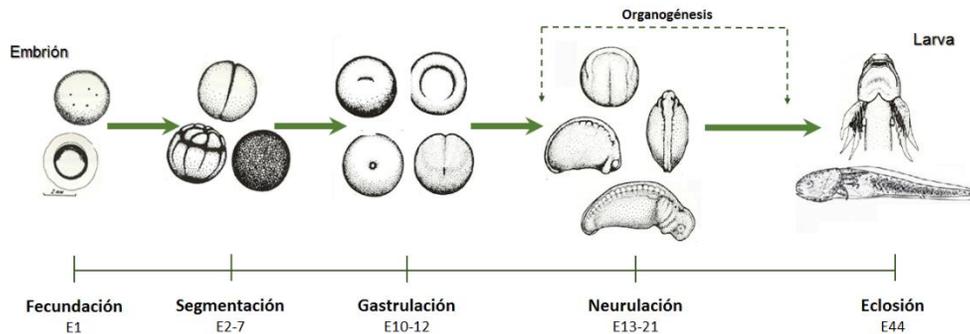


Fig. 26. Desarrollo embrionario de *Ambystoma mexicanum* dividido en las fases de fecundación, segmentación, gastrulación, neurulación y eclosión (creación propia basada en la descripción de Bordzilovskaya et al., 1989).

Para los animales que llevan a cabo un proceso de embriogénesis externo (a través de huevos depositados directamente en el medio como los anuros y los urodelos), el sustrato energético está limitado al contenido dentro del huevo. La proteína de la yema es la principal fuente nutricional para los embriones ya que contienen componentes de fosfato, carbohidratos, lípidos, hierro, calcio y otros minerales, vitaminas y hormonas que son importantes para el desarrollo del embrión (Craig y Ozlem, 2018; Jorgensen et al., 2009) (Figura 27).

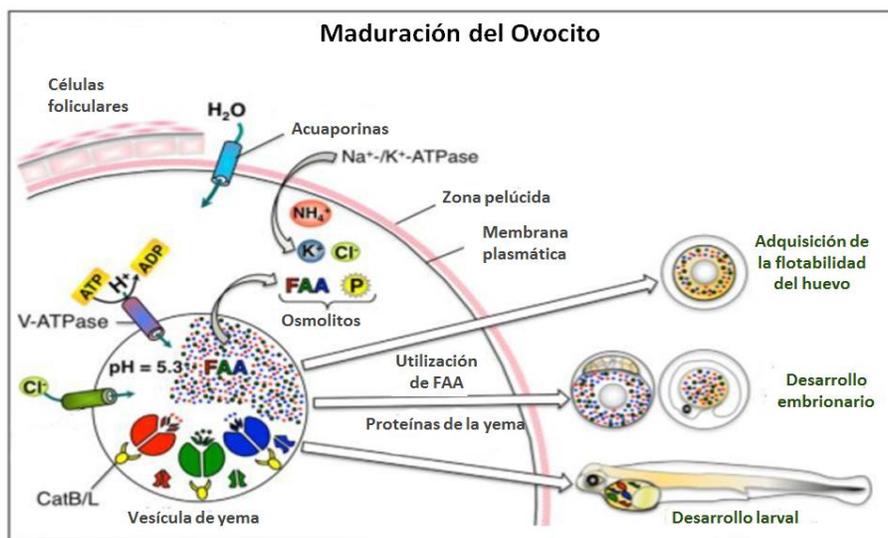


Fig. 27. Representación de la estructura interna de un ovocito maduro de *Xenopus laevis* (FAA: aminoácidos libres por sus siglas en inglés) (Craig y Ozlem, 2018).

Los ovocitos están rodeados por una envoltura vitelina acelular conocida como envoltura o cápsula del huevo. Después de la fecundación, esta envoltura tiene como función proteger al embrión del medio externo acuático ya que posee funciones antimicrobianas y bactericidas (Lubzens et al., 2010). Durante el desarrollo de los huevos la protección la brinda la membrana vitelina y posteriormente mientras avanza el desarrollo se va modificando la estructura de protección por una capa envolvente (Finn, 2007). No obstante, se ha reportado que esta protección podría no ser suficiente durante el desarrollo embrionario de anfibios ante condiciones de estrés por las condiciones del medio acuático.

En embriones de la *Rana arvalis* expuestos al pesticida Cipermetrina, se observó que durante las primeras etapas de desarrollo hay una mayor tasa de alteraciones morfológicas en comparación con estadios más desarrollados. Esto sugiere que la severidad de los efectos adversos podría estar relacionada con la etapa de desarrollo en que se expongan a los organismos (Greulich y Pflugmacher, 2003). La vulnerabilidad de los embriones podría vincularse a la disminución en volumen de la capa protectora del huevo durante el desarrollo embrionario. En *Xenopus laevis* (Nieuwkoop y Faber, 1967) y *Ambystoma mexicanum* (Bordzilovskaya et al., 1989) se ha observado que a medida que avanza su desarrollo embrionario el volumen de la capa protectora del huevo va disminuyendo y por lo tanto se incrementa la exposición de los embriones a las condiciones del medio. Aunado a lo anterior, se ha demostrado la presencia de canales iónicos en ovocitos de *Xenopus laevis* y en peces, lo que sugiere la capacidad del corion para permitir un intercambio iónico a través de la membrana hacia el interior de los ovocitos. Por este mecanismo, se puede llevar a cabo un intercambio iónico de agentes contaminantes hacia el espacio intracelular, alterando el desarrollo embrionario de los organismos (Lubzens et al., 2010).

10.2 Rutas de entrada de contaminantes en los ovocitos

En los embriones, las estructuras branquiales están poco desarrolladas por lo que la membrana del saco vitelino es la principal vía de intercambio de gases y de

ionoregulación. En la membrana de los ovocitos de *Xenopus laevis* se han descrito algunos canales iónicos de Ca_2^+ , Cl^- , Na^+ y K^+ , asociados a la actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa. También se han descrito los canales de cationes mecanosensibles (MSCC), los cuales son permeables para los iones de K^+ , NH_4^+ , Cs^+ , Rb^+ y Na^+ (ordenados en orden descendente de permeabilidad) (Terhag et al., 2010; Wright y Wood, 2009). En la membrana del saco vitelino de ovocitos de peces también se ha identificado la presencia de proteínas Rh (Rhcg1, Rhag y Rhbg), grupo de glicoproteínas importantes en el transporte de amoniaco (NH_3) transmembranal (Wright y Wood, 2009) (Figura 28).

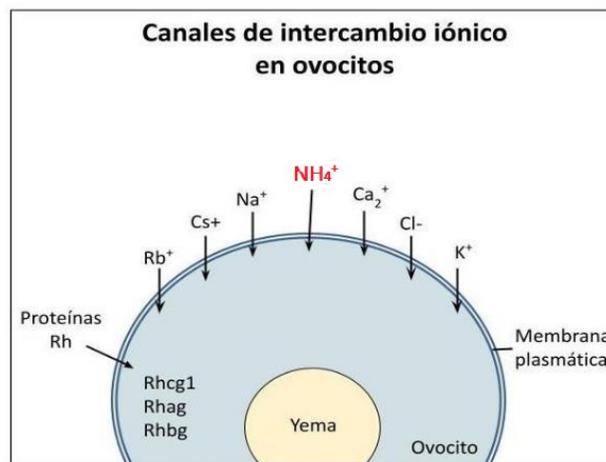


Fig. 28. Representación de canales iónicos en ovocitos de *Xenopus laevis* y la presencia de proteínas Rh descritas en peces (creación propia basado en Terhag et al., 2010; Wright y Wood, 2009).

La incorporación intracelular del NH_4^+ puede darse por competencia y sustitución de los iones K^+ y Na^+ en sus mecanismos de transporte iónico (Ip y Chew, 2010), mientras que el NH_3 difunde a nivel intracelular a través de proteínas Rh (Wright y Wood, 2009). De igual manera, la incorporación del nitrito NO_2^- y del nitrato NO_3^- a las células puede darse por competencia con el ión Cl^- , ocupando su lugar (Kroupová et al., 2018; Poulsen et al., 2018).

Los estudios que abordan el efecto de la acción subletal de contaminantes en estadios tempranos de anfibios en escenarios de exposición ambiental es amplia, aunque la mayoría de los estudios se centran particularmente en la acción tóxica de

fertilizantes y pesticidas (Adelizzi et al., 2019; Liendro et al., 2015; Lajmanovich et al., 2014; Robles-Mendoza et al., 2009), herbicidas (Wagner et al., 2015; Edge et al., 2014), metales (Jayawardena et al., 2017; Weir et al., 2019; Gardner et al., 2017) y por efecto de la radiación UV (Londero et al., 2019; Lipinski et al., 2016; Palen et al., 2015; Croteau et al., 2008) (Tabla 2).

Tabla 2. Efectos subletales en etapas tempranas de anuros por la exposición crónica a contaminantes como fertilizantes, pesticidas, herbicidas, metales y por efecto de la radiación UV-B

	Bioquímico	Morfológico	Fisiológico y Conductual
Toxicidad por exposición crónica en sistemas acuáticos	<ul style="list-style-type: none"> -Estrés oxidante. -Daño al DNA. -Apoptosis. -Necrosis. -Disminución de actividad enzimática. -Neurotóxico. -Peroxidación lipídica. -Disminución de transporte de O² 	<ul style="list-style-type: none"> -Malformaciones. -Lordosis. -Edemas. -Menor tamaño. -Necrosis. -Lesiones en tejidos. 	<ul style="list-style-type: none"> -Menor eficiencia de eclosión. -Inhibición del desarrollo. - Reducción del crecimiento. -Convulsiones. -Mortalidad. -Nado desequilibrado. -Susceptibilidad a enfermedades. -Disminución de la actividad. -Inhibición de la metamorfosis.

(Adelizzi et al., 2019; Weir et al., 2019; Jayawardena et al., 2017; Lipinski et al., 2016; Liendro et al., 2015; Palen et al., 2015; Wagner et al., 2015; Edge et al., 2014; Robles-Mendoza et al., 2009)

10.3 Efectos tóxicos de los compuestos nitrogenados en anuros y urodelos durante los estadios tempranos de desarrollo.

A pesar del enriquecimiento de los cuerpos de agua por el aporte de compuestos nitrogenados, los estudios que abordan en anfibios el efecto crónico-subletal son relativamente reducidos, y los estudios que abordan el efecto de su interacción son aún más limitados. Aunque se ha reportado el efecto aditivo y sinérgico de mezclas de amonio, nitrito y nitrato en la actividad y el crecimiento de larvas del anuro *Pelophylax perezii* (Egea-Serrano y Tejedo, 2009). Macías y colaboradores (2007), también evidencian el impacto negativo por la combinación de la radiación UVB y nitrito, con un incremento de hasta 4 veces de los efectos en la *Rana perezii*, en comparación con los efectos ante la exposición individual de estos estresores en los embriones y larvas de anuros en etapas tempranas. De tal manera, los estudios que aborden el efecto combinado de los compuestos nitrogenados bajo escenarios de concentraciones ambientales son de suma relevancia para profundizar en sus

impactos sobre la biodiversidad de los anfibios y la salud de su ecosistema. Por otro lado, cabe destacar que la mayoría de los estudios que abordan el efecto subletal de compuestos nitrogenados en anfibios se centran en los anuros, lo que destaca la relevancia de abordar estos estudios en urodelos y particularmente en especies sujetas a protección especial y bajo condición de extinción ecológica en su hábitat como lo es el ajolote *Ambystoma mexicanum*.

En el caso de los compuestos nitrogenados se han reportado diferentes efectos subletales en huevos y larvas de anfibios por exposición crónica (Tabla 2 a 4). En embriones expuestos a bajas concentraciones de amoníaco (0.1 mg/L N-NH_3) se observaron malformaciones como lordosis, cuerpo asimétrico, deformidades en la cola, formación de edemas, ausencia de cola, menor tamaño, menor tasa de eclosión y un incremento en la mortalidad (Deng et al., 2017; García-Muñoz et al., 2011; Mendoza, 2009; Hamer et al., 2004; Ortiz et al., 2004; Jofre y Karasov, 1999; Schuytema y Nebeker, 1999). Los efectos morfo-funcionales por exposición a nitrito ($0.05 \text{ mg/L N-NO}_2^-$) incluyen la formación de edemas subdermales, desequilibrio y reducción de actividad de nado, parálisis, secreción de mucosidad, menor tamaño y menor supervivencia en larvas eclosionadas (Mendoza, 2009; Shinn et al., 2008; Griffis-Kyle, 2004; Marco y Blaustein, 1999; Huey y Beitinger 1980). El nitrato N-NO_3^- tiene una menor toxicidad en los organismos acuáticos, y estudios en anfibios han reportado una baja tasa de mortalidad en exposiciones de hasta 80 mg/L N-NO_3^- en etapas tempranas de desarrollo (Hecnar, 1995). Sin embargo, en concentraciones mucho menores, también se han registrado efectos subletales como desequilibrio en el nado, parálisis, deformidad en ojos, pérdida de pigmentación, malformaciones en cabeza, tórax y cola, pérdida de peso, hinchazón en el cuerpo y hemorragias intestinales (Garriga et al., 2017; Mendoza, 2009; Krishnamurthy et al., 2008; Smith et al., 2005; Hecnar, 1995).

Los efectos adversos a nivel conductual que se han reportado en embriones y larvas incluyen alteraciones en su capacidad motora y actividad de nado que conllevan a una disminución en la actividad para alimentarse o para escapar de los

depredadores. Estas modificaciones de comportamiento, dentro de su hábitat natural, los hace más vulnerables a ser depredados y disminuye su capacidad de supervivencia en vida libre (Deng et al., 2017; Polo-Cavia et al., 2016; Ilha y Schiesari, 2014; García-Muñoz et al., 2011; Shinn et al., 2008).

Tabla 3. Efectos subletales en embriones y larvas de anuros y urodelos por la exposición crónica a amonio (NH_4^+) y amoniaco (NH_3).

AMONIO					
Especie	Estadio	Exposición	Efectos	Parámetros	Referencia
ANUROS					
<i>Rana pipiens</i>	Embrión	5d <0.5 mg/L N-NH ₃	. Cuerpo asimétrico . Deformidad en cola . Lordosis . Menor tasa de eclosión	23 °C pH: 8.0	Jofre y Karasov, 1999.
<i>Rana clamitans</i>	Embrión	4d 0.1 mg/L N-NH ₃			
<i>Bufo americanus</i>	Embrión	3d 0.2 mg/L N-NH ₃			
<i>Bufo gargarizans</i>	Embrión	3d 10 mg/L NH ₄ Cl	. Deformidad en cola . Edemas . Hiperplasia	18 °C pH:7	Deng et al., 2017.
<i>Rana chensinensis</i>	Embrión	3d 10 mg/L NH ₄ Cl	. Lordosis . Menor tamaño . Estrés oxidativo		
<i>Litoria aurea</i>	Larva	150d <5 mg/L NH ₄ NO ₃	. Disminución de actividad . Menor tamaño	22.2 °C	Hammer et al., 2004.
<i>Pseudacris regilla</i> <i>Xenopus laevis</i>	Embrión	5d 6.9 mg/L N-NH ₄	. Edemas . Lordosis . Estrés oxidativo	22.5 °C pH: 6.6 pH: 7.0-7.5	Schuytema y Nebeker, 1999.
<i>Epidalea calamita</i>	Embrión Larva	4d <22 mg/L NH ₄ NO ₃	. Menor supervivencia . Menor tamaño	20 °C pH: 7.2-7.8	García-Muñoz et al., 2011.
<i>Hyla arborea</i>	Larva	8d <10 mg/L NH ₄ NO ₃	. Deformidad de cola . Edemas . Lordosis . Menor tamaño . Estrés oxidativo	22.2 °C pH: 7.2-7.8	Ortiz et al., 2004.
URODELOS					
<i>Ambystoma mexicanum</i>	Embrión	4d 0.3 mg/L NH ₄ Cl	. Ausencia de cola . Edemas . Lordosis . Estrés oxidativo	15 °C	Mendoza, 2009.

Tabla 4. Efectos subletales en embriones y larvas de anuros y urodelos por la exposición crónica a nitrito (N-NO₂⁻).

NITRITO					
Especie	Estadio	Exposición	Efectos	Parámetros	Referencia
ANUROS					
<i>Bufo boreas</i>	Larva	1 mg/L N-NO ₂ ⁻	. Deformación de cola . Edemas . Parálisis . Reducción de actividad . Estrés oxidativo	15°C	Marco et al., 1999.
<i>Rana pretiosa</i>	Larva				
<i>Rana aurora</i>	Larva				
<i>Hyla regilla</i>	Larva				
<i>Pelophylax perezi</i>	Larva	0.05 mg/L N-NO ₂ ⁻	. Deformidades . Eclosión apresurada . Edemas . Menor tamaño . Estrés oxidativo	18 °C pH: 8.0-8.2	Shinn et al., 2008.
<i>Rana sylvatica</i>	Larva	1 mg/L N-NO ₂ ⁻	. Menor supervivencia . Menor tasa de eclosión	17.8°C pH: 8.2	Griffis-Kyle, 2004.
URODELOS					
<i>Ambystoma gracile</i>	Larva	1 mg/L N-NO ₂ ⁻	. Desequilibrio en nado . Edemas . Lordosis . Parálisis . Reducción de actividad . Estrés oxidativo	15°C	Marco et al., 1999.
<i>Epidalea texanum</i>	Larva	0.48 mg/L N-NO ₂ ⁻	. Secreción de mucosidad . Estrés oxidativo	25°C pH: 7.0	Huey and Beitinger, 1980.
<i>Ambystoma mexicanum</i>	Embrión	0.1 mg/L N-NO ₂ ⁻	. Deformidad de cola . Edemas . Lordosis . Menor tamaño . Estrés oxidativo	15°C	Mendoza, 2009

Tabla 5. Efectos subletales en embriones y larvas de anuros y urodelos por la exposición crónica a nitrato (N-NO_3^-).

NITRATO					
Especie	Estadio	Exposición	Efectos	Parámetros	Referencia
ANUROS					
<i>Rana pipiens</i> <i>Pseudocris triseriata</i>	Larva	100d <10 mg/L N-NO_3^-	. Deformación de cola . Edemas . Parálisis . Reducción de actividad . Estrés oxidativo	20 °C pH: 7.5-8	Hecnar, 1995.
<i>Alytes obstetricans</i>	Larva	14 d >80 mg/L N-NO_3^-	. Menor tamaño . Menor supervivencia	20-22°C	Garriga et al., 2017.
<i>Rana catesbeiana</i>	Larva	15 d 5 mg/L N-NO_3^-	. Menor supervivencia . Menor tamaño . Pérdida de peso	17-19°C	Smith et al., 2005.
<i>Nyctibatrachus major</i>	Larva	4.4 mg/L NaNO_3^-	. Desequilibrio en nado . Deformidades . Edemas . Estrés oxidativo	22.3°C	Krishnamurthy et al., 2008.
<i>Fejervarya limnocharis</i>	Larva		. Deformidades en cuerpo . Despigmentación . Hemorragia intestinal . Lordosis . Parálisis . Estrés oxidativo		
URODELOS					
<i>Ambystoma mexicanum</i>	Embrión	0.1 mg/L NaNO_3^-	. Deformidad de cola . Edemas . Lordosis . Menor tamaño . Estrés oxidativo	15°C	Mendoza, 2009.

10.4 Estrés redox y señalización celular en etapas tempranas de desarrollo de organismos acuáticos

Los efectos tóxicos del amonio, nitrito y nitrato en los organismos acuáticos, incluyendo los anfibios, se han relacionado con los efectos por estrés oxidante celular y con la alteración del metabolismo aerobio energético. La alteración del balance redox celular perjudica la capacidad de los embriones para desarrollarse normalmente, ocasionando que el desarrollo se detenga y/o se desarrollen malformaciones (Lushchak, 2016; Ortiz-Santaliestra y Marco, 2015; Mussi y Calcaterra, 2010; Ortiz-Santaliestra et al., 2010b; Valavanidis et al., 2006). Por otro lado, la canalización de energía al proceso de desintoxicación de los contaminantes, puede ser un factor que resulte en alteraciones durante el desarrollo embrionario y reflejarse en retrasos del crecimiento, malformaciones y falta de movilidad en etapas de desarrollo posteriores (Greulich y Pflugmacher, 2003).

El desarrollo de la vida temprana se caracteriza por ser una etapa de rápido crecimiento por todos los procesos celulares que ocurren. Esta etapa involucra procesos de elevada complejidad sujetos a regulación temporal y espacial finamente coordinados. Durante el desarrollo embrionario en vertebrados, los ROS a nivel intracelular desempeñan una función reguladora fundamental en la proliferación, diferenciación y muerte celular programada (apoptosis) (revisión en Harvey et al., 2002 y en Timme-Lagary et al., 2018).

En los anfibios, el metabolismo aerobio y el requerimiento energético se incrementa con el progreso del desarrollo embrionario, lo que conlleva a un aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y en la actividad antioxidante para reducir su efecto tóxico. El incremento en la producción de ATP sustenta los requerimientos energéticos metabólicos, por lo que durante las primeras etapas de desarrollo embrionario hay una elevada actividad metabólica (Timme-Laragy et al., 2018). Aunado a esto, en vida libre los organismos acuáticos están expuestos a menudo a agentes contaminantes que alteran el balance antioxidante (balance redox). Esto ocasiona un incremento en la producción de ROS, alterando el sistema

celular antioxidante y modificando las cascadas de señalización que regulan procesos fisiológicos para el desarrollo de los organismos. La alteración de estos procesos fisiológicos puede conducir a cambios estructurales y funcionales o incluso, inhibir el desarrollo embrionario (Jiang et al., 2019; Sant et al., 2017; Mussi y Calcaterra, 2010).

De tal manera, la participación de los sistemas antioxidantes (enzimáticos y no enzimáticos) desde etapas tempranas del desarrollo embrionario es fundamental para el mantenimiento del balance redox celular que está involucrado en los procesos de señalización celular (Rizzo et al., 2007). Una sobreproducción de ROS por la exposición a sustancias químicas, puede modificar el potencial redox intracelular en las células embrionarias ocasionando “estrés redox”. El estrés redox puede ser de naturaleza activa (dirigida a vías de señalización específicas) o pasiva (efectos pasivos que ocasionan daño a las macromoléculas) (Timme-Laragy et al., 2018).

En organismos acuáticos se han descrito dos sistemas principales que regulan la actividad enzimática antioxidante y que están relacionados con el desarrollo de los organismos, el factor NF-KB y la vía HIF. El factor NF-KB (factor de transcripción para genes implicados en la supervivencia, diferenciación, inflamación y crecimiento celular), activa la transcripción génica de proteínas con función reguladora en los procesos de desarrollo y para realizar la biosíntesis de defensas antioxidantes como GSH. La vía de señalización HIF es crucial para los organismos acuáticos en la actividad inmunológica ya que actúa como regulador y activador de genes para la función mitocondrial, angiogénesis, proliferación y apoptosis celular (Birben et al., 2012; Lushchak, 2011; Valko et al., 2007). Se ha observado en peces que la exposición crónica en altas concentraciones de amonio incrementa la expresión del ARNm de HIF-1 para promover la respuesta al daño celular por el estrés, ya que el incremento de su actividad se relaciona con la actividad de regulación de la expresión de genes de defensa contra el daño oxidativo de las branquias ocasionado por un exceso de ROS (Liu et al., 2021). En el pez cebra (*Danio rerio*)

se ha reportado que la proteína Nrf2 está involucrada en la regulación de la respuesta al estrés oxidativo y en la protección antioxidante en embriones contra desafíos oxidantes en los primeros estadios de desarrollo (Kovac et al., 2015).

Se ha reportado en los anuros *Xenopus laevis* y *Bufo arenarum*, alteraciones en la actividad de SOD y GSH durante el desarrollo embrionario después de una exposición crónica a contaminantes con potencial oxidativo (Mussi et al., 2010; Rizzo et al., 2007; Valavanidis et al., 2006). De igual manera, en etapas tempranas de desarrollo del anuro *Pelobates cultripes* se observó que bajo condiciones de estrés ambiental (salinidad, temperatura, pH, herbicidas y predadores) la concentración de la hormona corticosterona se incrementó considerablemente, así como la producción de SOD, lo que condujo a un desequilibrio en el estado redox de los organismos (Burraco y Gomez, 2016).

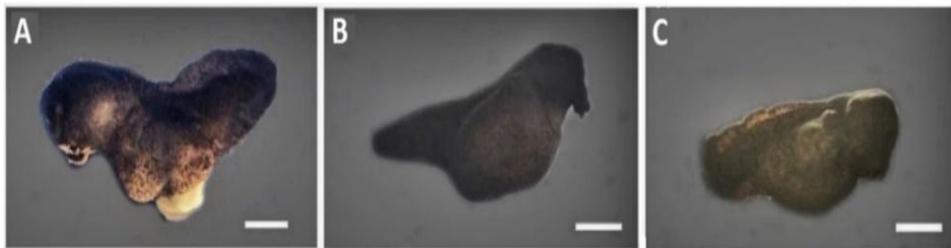


Fig. 29. Malformaciones en el desarrollo embrionario de *Bufo gargarizans* (A-B) y *Rana chensinensis* (C) por exposición a $N-NH_4^+$ (barra blanca equivale 1mm) (Deng et al., 2017).

Los efectos tóxicos del amonio, nitrito y nitrato en etapas tempranas de desarrollo se han relacionado con el estrés oxidativo celular. En donde se altera la capacidad de los embriones para desarrollarse normalmente, ocasionando que el desarrollo se detenga y/o se desarrollen malformaciones (Deng et al., 2017; Mussi y Calcaterra, 2010; Mendoza, 2009; Shin et al., 2008) (Figura 29). Por otro lado, se ha observado que, en anfibios el nitrato puede interrumpir la función de la glándula tiroidea (TH), disminuyendo los niveles hormonales y alterando las vías de señalización de las hormonas asociadas al desarrollo de los organismos (Deng et al., 2017; Wang et al., 2015)

Los efectos por estrés redox pueden ser diferentes de acuerdo al momento específico del desarrollo, ya que la susceptibilidad al daño oxidativo y la respuesta antioxidante puede variar dependiendo de la etapa de desarrollo, los niveles de daño y la respuesta antioxidante (Sant et al., 2017). Sin embargo, estudios muestran evidencia de que el estado redox de los embriones son más susceptibles a la toxicidad durante la organogénesis. En esta etapa se ha observado una mayor desregulación en los procesos de desarrollo, aunque en etapas más tempranas también se han observado efectos adversos. En la rana *Pelophylax esculentus* se analizó la concentración de ROS en diferentes etapas del desarrollo y se reportó un incremento en la producción de ROS relacionado con el aumento de antioxidantes en etapas que siguen procesos importantes de desarrollo y crecimiento (desarrollo de órganos, formación de estructuras morfológicas, transición a la vida terrestre, patrones de alimentación) (Prokic et al., 2019).

Mussi y colaboradores (2010) reportaron alteraciones morfológicas durante el desarrollo embrionario del anuro *Chaunus arenarum* relacionados con el estrés oxidante por la exposición al pesticida Paraquat. Aunque las malformaciones observadas fueron evidentes desde el estadio de gástrula, los análisis histológicos demostraron otras alteraciones a partir del estadio de blástula que implica daños en el DNA. Esto da como resultado la represión de la expresión génica durante el desarrollo del embrión, comprometiendo procesos como la migración, diferenciación y/o proliferación celular. Estudios realizados en *Xenopus laevis* han reportado que desde las primeras etapas de desarrollo, el sistema antioxidante se activa e incrementa la actividad de la catalasa y la SOD, y posteriormente del sistema GSH, alcanzando su máximo en la etapa 40 (posterior a la etapa de organogénesis) (Rizzo et al., 2007).

Cabe resaltar que la organogénesis es una etapa crítica para el desarrollo del organismo ya que durante este periodo las células se diferencian terminalmente en estructura y función bioquímica utilizando una gran variedad de señales moleculares para controlar y regular estos procesos. De tal manera, la exposición a sustancias

químicas inductoras de estrés oxidativo/nitrosativo durante etapas clave del desarrollo embrionario puede resultar en la alteración del balance redox que altera las vías de señalización celular y promueve la dismorfogénesis, la pérdida funcional o la letalidad del embrión (Timme-Laragy et al., 2018).

Los efectos adversos a nivel conductual que se han reportado en embriones y larvas incluyen alteraciones en su capacidad motora y actividad de nado que conllevan a una disminución en la actividad para alimentarse o para escapar de los depredadores (Deng et al., 2017; Polo-Cavia et al., 2016; Ilha y Schiesari, 2014; García-Muñoz et al., 2011; Shinn et al., 2008). Estas modificaciones de comportamiento, dentro de su hábitat natural, los hace más vulnerables a ser depredados y disminuye su capacidad de supervivencia en vida libre lo cual conduce a largo plazo al deterioro estructural y funcional de las poblaciones.

10.5 Estudios ecotoxicológicos en *A. mexicanum*,

A pesar de la vulnerabilidad de *Ambystoma mexicanum* a la contaminación orgánica e inorgánica en su hábitat, son pocos los trabajos que reportan efectos adversos por exposición crónica a compuestos nitrogenados desde las primeras etapas de desarrollo de embriones y larvas (Mendoza, 2009; PAPIIT IN216621, datos no publicados).

Se ha reportado que la exposición crónica al amonio, nitrito y nitrato en embriones de *A. mexicanum* induce diferentes alteraciones durante el desarrollo embrionario y una elevada mortalidad en concentraciones ambientalmente relevantes (niveles que se registran de manera regular en el sistema lacustre de Xochimilco). A partir de exposiciones de 0.3 mg/L de NH_4Cl^- se han observado malformaciones como lordosis y edemas, mientras que el porcentaje de mortalidad incrementa hasta el 100% en exposiciones de 0.5 mg/L de NH_4Cl^- . La exposición a NaNO_2^- en concentraciones desde 0.1 mg/L y 0.5 mg/L NaNO_3 , se ha reportado que induce alteraciones como la formación de edemas, ausencia de cola, lordosis y un incremento en la mortalidad (Mendoza, 2009) (Figura 30).

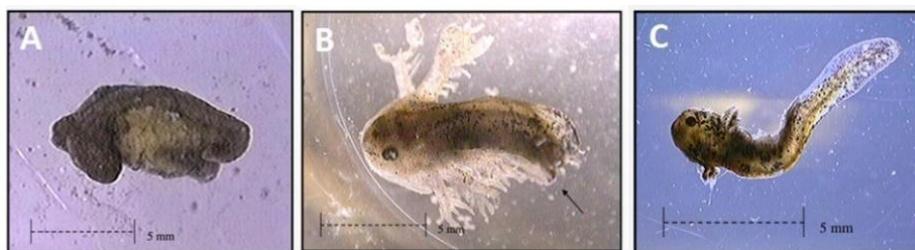


Fig. 30. Malformaciones en embriones de *Ambystoma mexicanum* por exposición crónica individual a amonio, nitrito y nitrato. A) Ausencia de desarrollo y edemas. B. Ausencia de cola en organismo recién eclosionado. C) Lordosis en organismo recién eclosionado (Mendoza, 2009).

Al comparar estos datos con las concentraciones reportadas de compuestos nitrogenados presentes en la zona lacustre de Xochimilco, se podría deducir que los ajolotes que aún podrían estar presentes en la zona se enfrentan a condiciones de estrés severo y crónico que podrían comprometer la viabilidad de los huevos y su éxito reproductivo. Por otro lado, dada la exposición simultánea en el medio a cada compuesto nitrogenado se esperaría la interacción adversa y efectos tóxicos aditivos o sinérgicos de las mezclas de amonio, nitrito y nitrato en la actividad, crecimiento y desarrollo de los embriones, como se observó en larvas del anuro *Pelophylax perezi* (Egea-Serrano et al., 2009).

Estudios recientes realizados en *A. mexicanum* denotan que la exposición en etapas tempranas de desarrollo (desarrollo embrionario y primeros estadios larvales) a concentraciones ambientalmente relevantes de mezclas de amonio, nitrito y nitrato inducen estrés oxidante y alteraciones en el metabolismo energético que comprometen la supervivencia de los organismos en su hábitat natural. Las alteraciones observadas se han relacionado a su vez con la bioacumulación de los compuestos nitrogenados. Aunque durante los primeros estadios del desarrollo de los ovocitos no se detectó la bioacumulación de amonio y nitrito, a medida que avanza el desarrollo los niveles de bioacumulación se van incrementando, siendo la etapa de larva temprana E50 (12 d post eclosión), en donde se registraron las concentraciones más elevadas (9.21 ug N-NH₄⁺/g PH, 2.27 ug de N-NO₂/g PH y 2.35 ug de N-NO₃/g PH). Aunque bajo estas concentraciones bioacumuladas no se observaron efectos morfológicos evidentes, se determinaron alteraciones

bioquímicas como la alteración del balance redox y el estrés oxidante asociado al desbalance del sistema antioxidante Glutación (GSH/GSSH), SOD (superóxido dismutasa) y en la producción de proteínas carboniladas. La alteración en el metabolismo aerobio energético a largo plazo podría poner en riesgo el desarrollo y supervivencia de los organismos (PAPIIT IN216621, datos no publicados).

De acuerdo a los informes y antecedentes previos se puede inferir que bajo los parámetros ambientales actuales de la zona lacustre de Xochimilco, las condiciones no son idóneas para que la especie *A. mexicanum* pueda reproducirse y desarrollarse de forma exitosa, ya que la mayoría de los canales de Xochimilco sobrepasan los niveles máximos permisibles para la vida acuática (NMPVA) (Nordin y Pommen, 2009) de amonio, nitrito y nitrato (PAPIIT IN216621, datos no publicados). La excepción lo constituyen algunos canales de la Zona de invernaderos y Zona de Humedales que presentan sitios con concentraciones por debajo o cerca del límite del NMPVA, y los cuales podrían ser propuestos como idóneos para que la especie pueda prevalecer en vida silvestre. No obstante, aún en las concentraciones reportadas en estos sitios se han observado alteraciones durante el desarrollo de los embriones (Mendoza, 2009; PAPIIT IN216621, datos no publicados), lo que puede perjudicar los esfuerzos por restablecer a la población de ajolotes en su hábitat.

11. Conclusiones

De acuerdo a la información reportada, las concentraciones de amonio (NH_4^+ ; NH_3), nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-) en la mayoría de los canales de la Zona Lacustre de Xochimilco sobrepasan los límites permisibles para la vida acuática (NMPVA) (1.8 mg N-AT/L; 0.02 mg N- NO_2^- /L; 3.0 mg N- NO_3^- /L). Por estas características de este cuerpo de agua, se considera que las especies acuáticas altamente sensibles como el ajolote se encuentran en alto riesgo con repercusiones adversas en su desarrollo y supervivencia, así como también en la viabilidad reproductiva en los organismos adultos.

La toxicocinética de los compuestos nitrogenados en organismos acuáticos como los anfibios, involucra su absorción por vía dérmica debido a la alta permeabilidad de la piel y a través de las branquias por inversión de los gradientes químicos. El incremento ambiental de compuestos nitrogenados conlleva a su bioacumulación desde las primeras etapas de desarrollo, ya que la capa protectora vitelina de los ovocitos se va reduciendo conforme avanza el desarrollo y por lo tanto son expuestos directamente a la acción tóxica de estos contaminantes como alteración del balance redox, malformaciones, reducción del crecimiento, mayor susceptibilidad a enfermedades y disminución de la actividad, lo cual pone en riesgo la supervivencia de los organismos. De tal manera, es posible afirmar que desde las etapas tempranas del desarrollo de *Ambystoma mexicanum* los embriones se encuentran expuestos directamente a la acción tóxica de estos compuestos nitrogenados con la consecuente alteración en el desarrollo ontogénico de los organismos, lo cual podría comprometer su viabilidad, sobrevivencia y éxito reproductivo.

También cabe resaltar la importancia de realizar estudios de toxicidad de contaminantes en los sistemas acuáticos en especies de urodelos, para poder profundizar en los impactos sobre la biodiversidad y la salud del ecosistema, así como para poder implementar propuestas de manejo que permitan mejorar las condiciones de ambientes alterados por las actividades antrópicas para el desarrollo de especies como el ajolote *A. mexicanum*.

12. Recomendaciones

El ajolote es una especie que se encuentra en peligro de extinción debido al deterioro histórico de su hábitat natural y se han realizado intentos fallidos de reintroducción de la especie sin tomar en cuenta que las condiciones ambientales del acuífero permitan a los ajolotes desarrollarse y reproducirse de forma satisfactoria en su hábitat natural. De acuerdo a la información reportada, las condiciones ambientales de su hábitat no se consideran idóneas para garantizar la supervivencia a largo plazo de la especie y que permita el desarrollo, la reproducción y supervivencia de esta en su ambiente natural. Aunado a las condiciones ambientales de la Zona lacustre de Xochimilco, el impacto del estrés por competencia de recursos, supervivencia ante depredadores, viabilidad reproductiva, condiciones anóxicas de la columna de agua, entre otras, son factores que ponen en riesgo la supervivencia y el restablecimiento de la población del ajolote *Ambystoma mexicanum* en su hábitat natural y demuestra la relevancia de buscar alternativas para la posible reintroducción de esta especie en otros sitios ya sea dentro de la zona lacustre en sitios de bajo impacto por contaminantes o en sitios alternativos aledaños y/o artificiales.

A partir de esta información obtenida sobre la problemática de contaminación y deterioro de la Zona Lacustre de Xochimilco, se recomienda la implementación y/o modificación de programas cuyo objetivo principal sea mejorar la calidad de agua y la funcionalidad del sistema acuático. De tal manera, se requiere mejorar las acciones enfocadas en la reducción del aporte de contaminantes orgánicos e inorgánicos para la rehabilitación hidrológica del sistema lacustre que permita recuperar su función ecológica. Estas acciones nos permitirán mejorar las propuestas de manejo y/o proyectos de reintroducción de la especie *A. mexicanum*, que a largo plazo permitan el restablecimiento de la especie en su hábitat natural, así como un manejo adecuado sustentable del sistema lacustre de Xochimilco.

Bibliografía

1. Adelizzi R., Portmann J. and Van Meter R. (2019). Effect of individual and combined treatments of pesticide, fertilizer, and salt on growth and corticosterone levels of larval southern leopard frogs (*Lithobates sphenoccephala*). Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 77 (1): 29-39. doi: 10.1007/s00244-019-00629-6.
2. Agudelo M., Medina B., Gómez C. and Delgado J. (2022). *Ambystoma mexicanum*, a model organism in developmental biology and regeneration: a colombian experience. Acta Biológica Colombiana. 27(1). ISSN: 1900-1649.
3. Alcantara V., Cram, S., Bibson R., Ponce de León C. and Mazari-Hirrat M. (2013). Method development and validation for the simultaneous determination of organochlorine and organophosphorus pesticides in a complex sediment matrix. Agricultural Chemists International. 96 (4): 854-863. doi: 10.5740/jaoacint.12-190.
4. Alcaraz G., López-Portela X. and Robles-Mendoza C. (2015). Response of a native endangered axolotl, *Ambystoma mexicanum* (Amphibia), to exotic fish predator. Hydrobiologia. 753: 73-80. doi: 10.1007/s10750-015-2194-4.
5. Alonso A. and Camargo J. (2006). Toxicity of nitrite to three species of freshwater invertebrates. Environmental Toxicology. 21(1): 90-94. doi: 10.1002/tox.20155.
6. Alves R. and Agustí S. (2021). Oxidative stress in tissues of gilthead seabream (*Sparus aurata*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles exposed to ultraviolet-B radiation. Photochemistry and Photobiology. 8: 100070. doi: 10.1016/j.jpap.2021.100070.
7. Ambus P., and Zechmeister-Boltenstern, S. (2007). Denitrification and N-cycling in forest ecosystems. In: Biology of the nitrogen cycle. Bothe H., Ferguson S. and Newton W. (1st.ed., pp.343-358). Elsevier. ISBN: 9780444528575.
8. Angeles-Serrano G., Perevochtchikova M. and Carrillo-Rivera J. (2008). Posibles controles hidrogeológicos de impacto ambiental por la extracción de agua subterránea en Xochimilco, México. Latin American Geography. 7 (1): 39-56. doi: 10.1353/lag.2008.0008.
9. Arana M., Bojórquez C., Esquivel H., Latournerié C., Rosiles M. y Soto C. (2017). Contaminación química y biológica en la zona lacustre de Xochimilco. Universidad Autónoma de México. Serie Académicos. (1ra.ed., vol.130., pp.22-181) ISBN: 978-607-28-1084-6.
10. Ayala C., Ramos A., Merlo Á. and Zambrano L. (2019). Microhabitat selection of axolotls, *Ambystoma mexicanum*, in artificial and natural aquatic systems. Hydrobiologia. 828 (1): 11-20. doi: 10.1007/s10750-018-3792-8.
11. Bahadoran Z., Mirmiran P., Ghasemi A., Kabir A., Azizi F. and Hadaegh F. (2015). Is dietary nitrate/nitrite exposure a risk factor for development of thyroid abnormality? A systematic review and meta-analysis. Nitric Oxide. 47: 65-76. doi: 10.1016/j.niox.2015.04.002.
12. Bal A., Panda F., Pati S., Das K., Agrawal P. and Paital B. (2021). Modulation of physiological oxidative stress and antioxidant status by abiotic factors especially salinity in aquatic

- organisms. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 241: 108971. doi: 10.1016/j.cbpc.2020.108971.
13. Balangoda A., Deepananda K. and Wegiriya H. (2017). Effects of environmental contamination and acute toxicity of N-Nitrate on early life stages of endemic arboreal frog, *Polypedates cruciger* (Blyth, 1852). *Environmental Contamination and Toxicology*. 100(2): 195–201. doi:10.1007/s00128-017-2261-9.
 14. Beebee T. and Griffiths R. (2005). The amphibian decline crisis: a watershed for conservation biology? *Biological Conservation*. 125(3): 271-285 doi: 10.1016/j.biocon.2005.04.009.
 15. Birben E., Sahiner U., Sackesen C., Erzurum S. and Kalayci O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization*. 5 (1): 9-19. doi: 10.1097/WOX.0b013e3182439613.
 16. Bishop P., Angulo A., Lewis J., Moore R., Rabb G. and García-Moreno J. (2012). The amphibian extinction crisis – what will it take to put the action into the Amphibian Conservation Action Plan? *S.A.P.I.E.N.S.* 5 (2): 97-111. ISSN: 1993-3819.
 17. Blaustein A., Han B., Relyea R., Johnson P., Buck J., Gervasi S., and Kats L. (2011). The complexity of amphibian population declines: understanding the role of cofactors in driving amphibian losses. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1223 (1): 108-119. doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05909.x
 18. Bordzilovskaya N., Dettlaff T., Duhon S. and Malacinski G. (1989). Developmental-stage series of axolotl embryos. In: *Developmental biology of the axolotl*. Armstrong J.B. and Malacinski G.M. (pp. 201-219). Oxford University Press, New York.
 19. Bothe H., Ferguson S. and Newton W. (2006). *Biology of the nitrogen cycle*. (1st ed., pp.14-15). Elsevier. ISBN: 9780444528575.
 20. Burraco P. and Gomez-Mestre I. (2016). Physiological stress responses in amphibian larvae to multiple stressors reveal marked anthropogenic effects even below lethal levels. *Physiological and Biochemical Zoology*. 89 (6): 462-472. doi: 10.1086/688737.
 21. Camargo J. y Alonso A. (2007). Contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos: problemas medioambientales, criterios de calidad del agua, e implicaciones del cambio climático. *Ecosistemas*. 16 (2): 1-13. ISSN: 1132-6344.
 22. Canfield D. E., Glazer, A. N. and Falkowski, P. G. (2010). The evolution and future of Earth's nitrogen cycle. *Science*. 330 (6001): 192-196. doi: 10.1126/science.1186120.
 23. Casas A., Cruz A. y Aguilar M. (2004). Un regalo poco conocido de México al mundo: el ajolote. *CIENCIA ergo sum*. 10 (3): 304-308. ISSN: 1405-0269.
 24. Cervantes F. (2009). Anthropogenic sources of N-Pollutants and their impact on the environment and on public health. In *Environmental technologies to treat nitrogen pollution*. (1st. ed., vol. 1., pp.1-13). IWA publishing. ISBN: 1843392224.

25. Chao W. and Chao C. (1997). Nitrogen transformation in tropical soils: influence of fertilization and crop species. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 64: 11-17. doi: 10.1016/S0167-8809(97)00021-2.
26. Chaparro-Herrera D., Nandini S. and Sarma S. (2020). Turbidity effects on feeding by larvae of the endemic *Ambystoma mexicanum* and the introduced *Oreochromis niloticus* in Lake Xochimilco, Mexico. *Ecohydrology and Hydrobiology*. 20 (1): 91-101. doi: 10.1016/j.ecohyd.2019.07.002.
27. Cheng C., Su Y., Ma H., Deng, Y., Feng J., Chen X. and Guo Z. (2020). Effect of nitrite exposure on oxidative stress, DNA damage and apoptosis in mud crab (*Scylla paramamosain*). *Chemosphere*. 239, 124668. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.124668.
28. Cheng S., Tsai S. and Chen J. (2002). Accumulation of nitrate in the tissues of *Penaeus monodon* following elevated ambient nitrate exposure after different time periods. *Aquatic Toxicology*. 56 (2): 133-146. doi: 10.1016/s0166-445x(01)00181-3.
29. Chew S. and Ip A. (2017). Nitrogen metabolism and nitrogenous waste excretion. In: *Fishes out of Water*. Jaafar Z. and Murdy E. Marine Science Series. (1st. ed., vol.1., pp.167-170). ISBN: 9781-3151-19861.
30. CITES (2011). Convention on international trade in endangered species of wild fauna and flora. Fecha de consulta octubre, 2021; <http://www.cites.org>.
31. CITES (2022). Convention on international trade in endangered species of wild fauna and flora. Fecha de consulta Enero, 2023; <http://www.cites.org>.
32. Collins J. and Storer A. (2003). Global amphibian declines: sorting the hypotheses. *Diversity and Distributions*. 9 (2): 89-98. doi: 10.1046/j.1472-4642.2003.00012.x.
33. CONANP (2004). Ficha informática de los humedales de Ramsar. Sistema lacustre Ejidos de Xochimilco y San Gregorio Atlapulco. México. Secretaria del Medio Ambiente, CONANP. En línea: <http://www.conanp.gob.mx/conanp/dominios/ramsar/lsr.php>.
34. Contreras V., Martínez-Meyer E., Valiente E. and Zambrano L. (2009). Recent decline and potential distribution in the last remnant area of the microendemic Mexican axolotl (*Ambystoma mexicanum*). *Biological Conservation*. 142(12): 2881-2885. doi: 10.1016/j.biocon.2009.07.008.
35. Corrales L. y Muñoz A. (2012) Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Ciencias Biomédicas*. (vol.10., no.18., pp. 214-225). ISSN: 1794-2470.
36. Cortéz-Gómez A., Ruiz-Agudelo C., Valencia-Aguilar A. and Ladle R. J. (2015). Ecological functions of neotropical amphibians and reptiles: a review. *Universitas Scientiarum*. 20 (2): 229-245. doi: 10.11144/Javeriana.SC20-2.efna.
37. Craig S. and Ozlem Y. (2018). Vitellogenesis and yolk proteins. In: *Encyclopedia of Reproduction*. Skinner, M. (2nd.ed., pp.266-277). Academic Press. doi: 10.1016/B978-0-12-809633-8.20567-0.

38. Croteau M., Davidson M., Lean D. and Trudeau V. (2008). Global increases in ultraviolet B radiation: potential impacts on amphibian development and metamorphosis. *Physiological and Biochemical Zoology*. 81 (6): 743-761. doi: 10.1086/591949.
39. Cruz M., Sourial M., Treberg J., Fehsenfeld S., Adlimoghaddam A. and Weihrauch D. (2013). Cutaneous nitrogen excretion in the African clawed frog *Xenopus laevis*: effects of high environmental ammonia (HEA). *Aquatic Toxicology*. 136: 1-12. doi: 10.1016/j.aquatox.2013.03.002.
40. Daam M., Ilha P. and Schiesari L. (2020). Acute toxicity of inorganic nitrogen (ammonium, nitrate and nitrite) to tadpoles of five tropical amphibian species. *Ecotoxicology*. 29 (9): 1516-1521. doi: 10.1007/s10646-020-02247-8.
41. Davalli P., Mitic T., Caporali A., Lauriola A. y D'Arca D. (2016). ROS, cell senescence and novel molecular mechanisms in aging and age-related diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016 (1): 1-18. doi: 10.1155/2016/3565127.
42. Deng H., Chai L., Luo P., Zhou M., Nover D. and Zhao X. (2017). Toxic effects of NH₄⁺-N on embryonic development of *Bufo gargarizans* and *Rana chensinensis*. *Chemosphere*. 182: 617-623. doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.02.156.
43. Desnitskiy A. (2018). Cell cycles during early steps of amphibian embryogenesis: A review. *Biosystems*. 173: 100-103. doi: 10.1016/j.biosystems.2018.09.006.
44. De Vries W. (2021). Impacts of nitrogen emissions on ecosystems and human health: A mini review. *Environmental Science and Health*. 21: 100249. doi: 10.1016/j.coesh.2021.100249.
45. Dodson S.I. (2005). Aquatic Ecosystems. In: Introduction to limnology. (1st.ed., vol.1., pp.245-250). McGraw-Hill. ISBN: 0-07-287935-1.
46. Dodds W. and Whiles R. (2010). Nitrogen, sulfur, phosphorus and other nutrients. In: *Freshwater Ecology*. (2nd ed., vol 1., pp.348-353). Elsevier. ISBN: 978-0-12-374724-2.
47. DOF-Diario Oficial de la Federación. (2002). Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2001. Protección Ambiental - Especies Nativas de México de Flora y Fauna Silvestres - Lista de Especies en Riesgo. Diario Oficial de la Federación, México. Marzo 6, 2002. doi: https://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5173091.
48. Edge C., Thompson D., Hao C. and Houlahan J. (2014). The response of amphibian larvae to exposure to a glyphosate-based herbicide (Roundup WeatherMax) and nutrient enrichment in an ecosystem experiment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 109: 124-132. doi: 10.1016/j.ecoenv.2014.07.040.
49. Egea-Serrano A., Tejado M. and Torralva M. (2009). Populational divergence in the impact of three nitrogenous compounds and their combination on larvae of the frog *Pelophylax perezi* (Seoane, 1885). *Chemosphere*. 76 (7): 869-877. doi: 10.1016/j.chemosphere.2009.05.017.

50. Egea-Serrano A., Relyea R., Tejedo M. and Torralva M. (2012). Understanding of the impact of chemicals on amphibians: a meta-analytic review. *Ecology and Evolution*. 2(7): 1382-1397. doi: 10.1002/ece3.249.
51. Egea-Serrano A. and Tejedo M. (2014). Contrasting effects of nitrogenous pollution on fitness and swimming performance of Iberian waterfrog *Pelophylax perezi* (Seoane, 1885), larvae in mesocosms and field enclosures. *Aquatic Toxicology*. 146: 144-153. doi: 10.20350/digitalCSIC/8799.
52. Elizondo-Salazar J. (2006). El nitrógeno en los sistemas ganaderos de leche. *Agronomy Mesoamerican*. 17 (1): 66-77. doi: 10.15517/AM.V17I1.5068.
53. Egusquiza G. M. (2016). Ecotoxicología en anfibios: un análisis cuantitativo. Tesis de Licenciatura. Instituto Latinoamericano de Ciencias de la Vida y de la Naturaleza (ILACVN). Foz de Iguazú, Paraná. pp. 9-11.
54. Esteves G. (2015). Reducción de peroxinitrito por peroxirredoxina 3 mitocondrial humana. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad de la República Uruguay. pp. 1-8.
55. Evans D., Piermarini P. and Choe K. (2005). The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiological Reviews*. 85(1): 97-177. doi: 10.1152/physrev.00050.2003.
56. Evert R. and Eichhorn S. (2013). *Raven Biology of plants*. W. H. (8va. ed., pp.691-694). Freeman and Company Publishers. ISBN: 84-291-1843-8.
57. Farkas E. and Monaghan R. (2015). Housing and maintenance of *Ambystoma mexicanum*, the mexican axolotl. *Methods in Molecular Biology*. 1290: 27-46. doi: 10.1007/978-1-4939-2495-0_3.
58. Ferrandino I., Capriello T., Félix L., Di Meglio G., Santos D. and Monteiro S. (2022). Histological alterations and oxidative stress in adult zebrafish muscle after aluminium exposure. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 94:103-934. doi: 10.1016/j.etap.2022.103934.
59. Ferrara-Guerrero M., Hernández-Hernández M., Angeles-Vázquez J., Ponce-Mendoza A., Figueroa-Torres M. y Vargas-Solis R. (2014). La nitrificación microbiana como indicadora de calidad del agua en canales de la zona chinampera Xochimilco (México). En: *Manejo integral de la Cuenca de Xochimilco y sus afluentes*. UAM.E-Bios. pp.35-44. ISSN:2007-5782.
60. Ferguson S., Richardson D. and Van Spanning R. (2007). Biochemistry and molecular biology of nitrification in *Biology of the nitrogen cycle*. Bothe H., Ferguson S. and Newton W. (2006) (1st. ed., pp.209-222). Elsevier. ISBN: 9780444528575.
61. Finn R. (2007). The physiology and toxicology of salmonid eggs and larvae in relation to water quality criteria. *Aquatic Toxicology*. 81 (4): 337-354. doi: 10.1016/j.aquatox.2006.12.021.

62. Fowler D., Coyle M., Skiba U., Sutton M., Cape J., Reis S. and Voss M. (2013). The global nitrogen cycle in the twenty-first century. *Biological Sciences*. 368 (1621): 20130164. doi: 10.1098/rstb.2013.0164.
63. Frías A. (2008). Efecto de la radiación UV-B en el desarrollo embrionario de *Ambystoma mexicanum*. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. UNAM. pp. 126.
64. Galizia T. and Matsumura T. (2011). Biogeochemical cycles en *Limnology*. (1st. ed., vol.1., pp.351-353). CRC Press. ISBN: 978-0-203-80395-0.
65. García-Muñoz E., Guerrero F. and Parra G. (2011). Effects of previous sublethal pulse to ammonium nitrate on mortality and total length on *Epidalea calamita* larvae. *Chemosphere*. 84 (5): 671-675. doi: 10.1016/j.chemosphere.2011.03.031.
66. Gardner S., Cline G., Mwebi N. and Rayburn J. (2017). Developmental and interactive effects of arsenic and chromium to developing *Ambystoma maculatum* embryos: Toxicity, teratogenicity, and whole-body concentrations. *Toxicology and Environmental Health*. 80 (2): 91-104. doi: 10.1080/15287394.2016.1253514.
67. Garriga N., Montori A. and Llorente G. (2017). Impact of ammonium nitrate and sodium nitrate on tadpoles of *Alytes obstetricans*. *Ecotoxicology*. 26 (5): 667-674. doi: 10.1007/s10646-017-1799-y.
68. Gasparovic A., Zarkovic N. and Bottari S. (2018). Biomarkers of nitro-oxidation and oxidative stress. *Current Opinion in Toxicology*. Elsevier. 7: 73-80. doi: 10.1016/j.cotox.2017.10.002.
69. Gilbert S. (2005). *Biología del desarrollo*. Médica Panamericana. (7a. ed., pp.27-48). ISBN: 950-06-0869-3 / 84-7903-912-4.
70. Gomez M., Zaracho V. and Sandoval M. (2016). Desarrollo embrionario-larval y metamorfosis de *Physalaemus albonotatus* (Anura: *Leptodactylidae*). *Revista Veterinaria*. 27 (1): 21-27. doi: 10.30972/vet.2711068.
71. Greenberg D. and Palen W. (2019). A deadly amphibian disease goes global. *Science*. 363(6434): 1386-1388. doi: 10.1126/science.aax0002.
72. Greulich K. and Pflugmacher S. (2003). Differences in susceptibility of various life stages of amphibians to pesticide exposure. *Aquatic Toxicology*. 65 (3): 329-336. doi: 10.1016/s0166-445x(03)00153-x.
73. Griffis-Kyle K. (2004). Ontogenic delays in effects of nitrite exposure on tiger salamanders (*Ambystoma tigrinum tigrinum*) and wood frogs (*Rana sylvatica*). *Environmental Toxicology and Chemistry*. 24 (6): 1523-1527. doi: 10.1897/04-452r.1.
74. Gresens J. (2004). An introduction to the mexican axolotl (*Ambystoma mexicanum*). *Laboratorio Animal*. 33 (9): 41-47. doi: 10.1038/labani004-41.
75. Guillette L. and Edwards T. (2005). Is nitrate an ecologically relevant endocrine disruptor in vertebrates? *Integrative and Comparative Biology*. 45 (1): 19-27. doi: 10.1093/icb/45.1.19.

76. GOF (2006). Gaceta Oficial del Distrito Federal. Acuerdo por el que se aprueba el Programa de manejo del área natural protegida con carácter de zona de conservación ecológica "Ejidos de Xochimilco y San Gregorio Atlapulco". pp. 5-17.
77. Hamer A., Makings J., Lane S. and Mahony M. (2004). Amphibians decline and fertilizers used on agricultural land in south-eastern Australia. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 102 (3): 299-305. doi: 10.1016/j.agee.2003.09.027.
78. Han Y. (2015). The role of reactive oxygen species during early embryogenesis of *Xenopus laevis*. PhD Developmental Biology. The University of Manchester. pp.15-150.
79. Harvey A., Kind K. and Thompson J. (2002). REDOX regulation of early embryo development. *Reproduction*. 123 (4). 479-486. doi: 10.1530/rep.0.1230479.
80. Heales S. and Bolaños J. (2002). Impairment of brain mitochondrial function by reactive nitrogen species: the role of glutathione in dictating susceptibility. *Neurochemistry International*. 40 (6): 469-474. doi: 10.1016/s0197-0186(01)00117-6.
81. Hecnar S. (1995). Acute and chronic toxicity of ammonium nitrate fertilizer to amphibians from southern Ontario. *Environmental Contamination and Toxicology*. 14 (12): 2131-2137. doi: 10.1002/etc.5620141217.
82. Hegazi M., Attia Z., and Ashour O. (2010). Oxidative stress and antioxidant enzymes in liver and white muscle of Nile tilapia juveniles in chronic ammonia exposure. *Aquatic Toxicology*. 99 (2): 118-125. doi: 10.1016/j.aquatox.2010.04.007.
83. Hill R., Wyse G. and Anderson M. (2012). Nutrition, feeding, and digestion. In *Animal Physiology*. (3rd. ed., pp.32-95). Médica Panamericana. ISBN 978-0-87893-559-8.
84. Hill R. (2021) Excreción del nitrógeno y otros aspectos del metabolismo del nitrógeno en *Fisiología Animal Comparada*. (pp.307-335). Reverté. ISBN: 978-84-291-9262-9.
85. Hincapie M., Carbonell-Medina B., Arenas-Gomez C. and Delgado J. (2022). *Ambystoma mexicanum*, a model organism in developmental biology and regeneration: a colombian experience. *Acta Biológica Colombiana*. 27 (1): 113-126. doi: 10.15446/abc.v27n1.88309.
86. Hiriart M. and González L. (2016). Xochimilco: su importancia en la provisión de servicios ecosistémicos en La biodiversidad en la Ciudad de México. (1a. ed., vol.3., pp.240-255). CONABIO. ISBN: 978-607-8328-71-0.
87. Huey D. and Beiting T. (1980). Toxicity of nitrite to larvae of the salamander *Ambystoma texanum*. *Environmental Contamination and Toxicology*. 25 (1): 909-912. doi: 10.1007/BF01985629.
88. Isaza D., Cramp R. and Franklin C. (2020). Living in polluted waters: A meta-analysis of the effects of nitrate and interactions with other environmental stressors on freshwater taxa. *Environmental Pollution*. 261: 114091. doi: 10.1016/j.envpol.2020.114091.
89. Izazola H. (2001). Agua y sustentabilidad en la Ciudad de México. *Estudios demográficos y urbanos*. El Colegio de México. 16 (2): 285-320. doi: 10.24201/edu.v16i2.1121.

90. Ilha P. and Schiesari L. (2014). Lethal and sublethal effects of inorganic nitrogen on gladiator frog tadpoles (*Hypsiboas faber*, *Hylidae*). *Copeia*. 2: 221-230. doi: 10.1643/OT-13-117.
91. Ip A. and Chew S. (2010). Ammonia production, excretion, toxicity, and defense in fish: a review. *Frontiers in Physiology*. 1: 134. doi: 10.3389/fphys.2010.00134.
92. IUCN (2020). SSC Amphibian specialist group. 2020. *Ambystoma mexicanum*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020. Fecha de consulta: 09 Noviembre 2022. doi: 10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T1095A53947343.en.
93. Jayawardena U., Angunawela P., Wickramasinghe D., Ratnasooriya W., and Udagama P. (2017). Heavy metal-induced toxicity in the Indian green frog: Biochemical and histopathological alterations. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 36 (10): 2855-2867. doi: 10.1002/etc.3848.
94. Jensen F. (2003). Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 135 (1): 9-24. doi: 10.1016/s1095-6433(02)00323-9.
95. Jensen, F. (1996). Uptake, elimination and effects of nitrite and nitrate in freshwater crayfish (*Astacus astacus*). *Aquatic Toxicology*. 34 (2): 95-104. doi: 10.1016/0166-445X(95)00030-8.
96. Jiang L., Chen A., Niu F. and Zhang Y. (2019). Antioxidant vitamin E protects embryos of *Xenopus tropicalis* against lambda-cyhalothrin induced embryotoxicity. *Environmental Science and Pollution Research*. 26 (21): 21629-21640. doi: 10.1007/s11356-019-04651-y.
97. Jiménez M., Pérez-Belmont P., Schewenius M., Lerner A. and Mazari-Hiriart M. (2020). Assessing the historical adaptive cycles of an urban social-ecological system and its potential future resilience: the case of Xochimilco, Mexico City. *Regional Environmental Change*. 20 (1): 1-14. doi: 10.1007/s10113-020-01587-9.
98. Jofre M. and Karasov W. (1999). Direct effect of ammonia on three species of North American anuran amphibians. *Environmental Toxicology Chemistry*. 18 (8): 1806-1812. doi: 10.1002/etc.5620180829.
99. Jorgensen P., Steen J., Steen H. and Kirschner M. (2009). The mechanism and pattern of yolk consumption provide insight into embryonic nutrition in *Xenopus*. *Development*. 136 (9): 1539-1548. doi: 10.1242/dev.032425.
100. Kim J., Kang Y., Kim K., Kim S. and Kim J. (2019). Toxic effects of nitrogenous compounds (ammonia, nitrite, and nitrate) on acute toxicity and antioxidant responses of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 67: 73-78. doi: 10.1016/j.etap.2019.02.001.
101. Kocour K., Valentová O., Svobodová Z., Šauer P. and Máchová J. (2018). Toxic effects of nitrite on freshwater organisms: a review. *Reviews in Aquaculture*. 10(3): 525-542. doi: 10.1111/raq.12184.

102. Kovac S., Angelova P., Holmström K., Zhang Y., Dinkova-Kostova A. and Abramov A. (2015). Nrf2 regulates ROS production by mitochondria and NADPH oxidase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*. 1850 (4): 794-801. doi: 10.1016/j.bbagen.2014.11.021.
103. Krishnamurthy S., Meenakumari D., Gurushankara H. and Vasudev V. (2008). Nitrate-induced morphological anomalies in the tadpoles of *Nyctibatrachus major* and *Fejervarya limnocharis* (Anura: *Ranidae*). *Turkish Journal Zoology*. 32 (3): 239-244. ISSN: 1300-0179.
104. Kroupová H., Valentová O., Svobodová Z., Šauer P. and Máchová J. (2018). Toxic effects of nitrite on freshwater organisms: a review. *Reviews in Aquaculture*. 10 (3): 525-542. doi: 10.1111/raq.12184.
105. Lajmanovich R., Cabagna-Zenklusen M., Attademo A., Junges C., Peltzer P., Bassó A. and Lorenzatti E. (2014). Induction of micronuclei and nuclear abnormalities in tadpoles of the common toad (*Rhinella arenarum*) treated with the herbicides Liberty® and glufosinate-ammonium. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 769: 7-12. doi: 10.1016/j.mrgentox.2014.04.009.
106. Lacza Z., Pankotai E., Csordás A., Gero D., Kiss L., Horváth E. and Szabó, C. (2006). Mitochondrial NO and reactive nitrogen species production: Does mtNOS exist?. *Nitric Oxide*. 14 (2): 162-168. doi: 10.1016/j.niox.2005.05.011.
107. Liendro N., Ferrari A., Mardirosian M., Lascano C. and Venturino A. (2015). Toxicity of the insecticide chlorpyrifos to the South American toad *Rhinella arenarum* at larval developmental stage. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 39 (2): 525-535. doi: 10.1016/j.etap.2014.12.022.
108. Lipinski V., Dos Santos T. and Schuch A. (2016). An UV-sensitive anuran species as an indicator of environmental quality of the Southern Atlantic Rainforest. *Photochemistry and Photobiology*. 165: 174-181. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.10.025.
109. Liu M., Guo H., Liu B., Zhu K., Guo L., Liu B. and Zhang D. (2021). Gill oxidative damage caused by acute ammonia stress was reduced through the HIF-1 α /NF- κ b signaling pathway in golden pompano (*Trachinotus ovatus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 222: 112-504. doi: 10.1016/j.ecoenv.2021.112504.
110. Livingstone D. (2003). Oxidative stress in aquatic organisms in relation to pollution and aquaculture. *Revue de Médecine Vétérinaire*. 154:427-430. doi: 10.1016/j.ecoenv.2021.112504.
111. Londero J., Dos Santos M. and Schuch A. (2019). Impact of solar UV radiation on amphibians: focus on genotoxic stress. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 842: 14-21. doi: 10.1016/j.mrgentox.2019.03.003.
112. Lowje (2023). Nitrato de Plata. Recuperado el 01 de junio de 2023, de Wikipedia: https://es.wikipedia.org/wiki/Nitrato_de_plata.

113. Lubzens E., Young G., Bobe J. and Cerdá J. (2010). Oogenesis in teleosts: how fish eggs are formed. *General and Comparative Endocrinology*. 165 (3): 367-389. doi: 10.1016/j.ygcen.2009.05.022.
114. Lushchak V. (2011). Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic toxicology*. 101 (1): 13-30. doi: 10.1016/j.aquatox.2010.10.006.
115. Lushchak V. (2016). Contaminant-induced oxidative stress in fish: a mechanistic approach. *Fish Physiology and Biochemistry*. 42 (2): 711-747. doi: 10.1007/s10695-015-0171-5.
116. Macias G., Marco A. and Blaustein A. (2007). Combined exposure to ambient UVB radiation and nitrite negatively affects survival of amphibian early life stages. *Science of the Total Environment*. 385 (1-3): 55-65. doi: 10.1016/j.scitotenv.2007.06.016.
117. Madigan M., Martinko M. and Parker J. (2006). *Biología de los microorganismos*. Pearson Prentice Hall. (10a. ed., pp. 654-656). ISBN: 9788490352793.
118. Mann R., Hyne R., Choung C. and Wilson S. (2009). Amphibians and agricultural chemicals: review of the risks in a complex environment. *Environmental Pollution*. 157 (11): 2903-2927. doi: 10.1016/j.envpol.2009.05.015.
119. Marco A. (2002). Contaminación global por nitrógeno y declive de anfibios. *Revista Española de Herpetología*. 16 (5): 17. ISSN: 0213-6686.
120. Marco A. and Blaustein A. (1999). The effects of nitrite on behavior and metamorphosis in Cascades frogs (*Rana cascadae*). *Environmental Toxicology Chemistry*. 18 (5): 946-949. doi: 10.1002/etc.5620180519.
121. Martinelle K. and Häggström L. (1993). Mechanisms of ammonia and ammonium ion toxicity in animal cells: transport across cell membranes. *Journal of Biotechnology*. 30 (3): 339-350. doi: 10.1016/0168-1656(93)90148-G.
122. Martínez S. (2005). Especies reactivas del oxígeno y balance redox, parte I: aspectos básicos y principales especies reactivas del oxígeno. *Revista Cubana de Farmacia*. 39 (3): 0-0. ISSN: 1561-2988.
123. Mena G. y Servín Z. (2014). Manual básico para el cuidado en cautiverio del ajolote de Xochimilco (*Ambystoma mexicanum*). Laboratorio de Restauración Ecológica. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. (1ra. ed., pp.28-34). ISBN: 978-607-02-5513-7.
124. Méndez-Narváez J. and Warkentin K. (2022). Reproductive colonization of land by frogs: embryos and larvae excrete urea to avoid ammonia toxicity. *Ecology and Evolution*. 12(2): e8570. 1-26. doi: 10.1002/ece3.8570.
125. Mendoza A. (2009). Efectos en el desarrollo y supervivencia de embriones y larvas recién eclosionadas de *Ambystoma mexicanum* por exposición a diferentes concentraciones de nitrito, nitrato y amonio. Tesis de Maestría. Posgrado en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México. 18-36 pp.

126. Mendoza C. (2018). Las Chinampas del Humedal de Xochimilco: Sistemas de biorremediación para la sostenibilidad. Tesis de Maestría en Administración Integral del Ambiente. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, CICESE. Baja California, México. pp.43-52.
127. Meredith C. and Whiteman H. (2008). Effects of nitrate on embryos of three amphibian species. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 80 (6): 529-533. doi: 10.1007/s00128-008-9384-y.
128. Merlín-Uribe Y., González-Esquível C., Contreras-Hernández A., Zambrano L., Moreno-Casasola P. and Astier M. (2012). Environmental and socio-economic sustainability of chinampas (raised beds) in Xochimilco, Mexico City. *International Journal of Agricultural Sustainability*. 11 (3): 216-233. doi: 10.1080/14735903.2012.726128.
129. Meza-González J., Hernández-Quiróz M., Rojo-Callejas F., Hjort-Colunga E., Mazari-Hiriart M., Valiente-Riveros E. and Ponce de León-Hill, C. (2022). Screening and risk evaluation of organic contaminants in an urban wetland fed with wastewater effluents. *Environmental Contamination and Toxicology*. 108(1): 114-121. doi: 10.1007/s00128-021-03243-2.
130. Moiseenko T. I. (2022). Surface water under growing anthropogenic loads: From global perspectives to regional implications. *Water*. 14(22): 3730. doi: 10.3390/w14223730.
131. Mosley O., Gios E., Close M., Weaver L., Daughney C. and Handley K. (2022). Nitrogen cycling and microbial cooperation in the terrestrial subsurface. *The ISME Journal*. 16(11): 2561-2573. doi: 10.1038/s41396-022-01300-0.
132. Morrissy J., Currell M., Reichman S., Surapaneni A., Megharaj M., Crosbie N. and Ball A. (2021). Nitrogen contamination and bioremediation in groundwater and the environment: A review. *Earth-Science Reviews*. 222: 103816. doi: 10.1016/j.earscirev.2021.103816.
133. Mussi M. and Calcaterra N. (2010). Paraquat-induced oxidative stress response during amphibian early embryonic development. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 151 (2): 240-247. doi: 10.1016/j.cbpc.2009.11.003.
134. Naamane A., Kamtass S., Namoussi S., Iounes N., Belhouari A. and El Amrani S. (2020). Evaluation of the acute toxicity of an ammonium sulfate fertilizer in two species of anuran tadpoles: *Bufo mauritanicus* (Schlegel 1841) and *Rana ridibunda* (Boulanger 1913). *Journal of Ecological Engineering*. 21(7). doi:10.12911/22998993/125462.
135. Nelson D. y Cox M. (2014). Bioenergética e Metabolismo: Oxidação de aminoácidos produção de ureia. En *Principios de Bioquímica de Lehninger*. (6ta. ed., pp.695-705). ISBN 9781429234146.
136. Newton W. (2007). Physiology, biochemistry, and molecular biology of nitrogen fixation. In: *Biology of the nitrogen cycle*. (1st. ed., pp.109-129). Elsevier. ISBN: 9780444528575.
137. Nieder R. and Benbi D. (2008). Carbon and nitrogen in the terrestrial environment. (1st. ed., vol.1., pp. 49-54). Springer Science. ISBN: 978-1-4020-8433-1.

138. Nieuwkoop P., Faber J. (1967). Normal table of *Xenopus laevis* (Daudin). Diario de Anatomía. North-Holland. 103 (3): 578. doi: 10.1201/9781003064565.
139. NOM-059-SEMARNAT (2010). Norma Oficial Mexicana. Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. <https://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/agenda/DOFsr/DO2454.pdf>.
140. Nordin R. and Pommen L. (2009). Pautas de calidad del agua para nitrógeno (nitrato, nitrito y amoníaco). Water Stewardship Division. Ministerio del Medio Ambiente. Provincia de Columbia Británica. 1-29. ISBN: 978-1289178901.
141. Nye H., Cameron J., Chernoff E. and Stocum D. (2003). Extending the table of stages of normal development of the axolotl: limb development. *Developmental Dynamics*. 226 (3): 555-560. doi: 10.1002/dvdy.10237.
142. Op den Camp H.J., Jetten S.M. y Strous M. (2007). Anammox. In: *Biology of the nitrogen cycle*. (1st ed., pp.245-262). Elsevier. ISBN: 9780444528575.
143. Ortiz M., Marco A., Saiz N. and Lizana M. (2004). Impact of ammonium nitrate on growth and survival of six european amphibians. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 47 (2): 234-239. doi: 10.1007/s00244-004-2296-x.
144. Ortiz C., Mora S., Trejo J. and Pantoja O. (2011). PvAMT1-1, a highly selective ammonium transporter that functions as H⁺/NH₄⁺ symporter. *Biological Chemistry*. 286(36): 31113-31122. doi: 10.1074/jbc.M111.261693.
145. Ortiz-Ordoñez E., López-López E., Sedeño-Díaz J., Uría E., Morales I., Pérez M. and Shibayama M. (2016). Liver histological changes and lipid peroxidation in the amphibian *Ambystoma mexicanum* induced by sediment elutriates from the Lake Xochimilco. *Journal of Environmental Sciences*. 46: 156-164. doi: 10.1016/j.jes.2015.06.020.
146. Ortiz-Santaliestra M., Marco A., Fernández M. and Lizana M. (2006). Influence of developmental stage on sensitivity to ammonium nitrate of aquatic stages of amphibians. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 25(1): 105-111. doi: 10.1897/05-023R.1
147. Ortiz-Santaliestra M., Fernández-Benítez M., Marco A. y Lizana M. (2010). Influence of ammonium nitrate on larval anti-predatory responses of two amphibian species. *Aquatic Toxicology*. 99(2): 198-204. doi:10.1016/j.aquatox.2010.04.020
148. Ortiz-Santaliestra M., Fernández-Benítez M., Lizana M. and Marco A. (2010). Adaptation to osmotic stress provides protection against ammonium nitrate in *Pelophylax perezi* embryos. *Environmental Pollution*. 158 (3): 934-940. doi: 10.1016/j.envpol.2009.09.011.
149. Ortiz-Santaliestra M., Fernández-Benítez M., Lizana M. and Marco A. (2011). Responses of toad tadpoles to ammonium nitrate fertilizer and predatory stress: differences between populations on a local scale. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 30(6): 1440-1446. doi: 10.1002/etc.523

150. Ortiz-Santaliestra M., Fernández-Benítez M. y Marco A. (2012). Density effects on ammonium nitrate toxicity on amphibians. Survival, growth and cannibalism. *Aquatic Toxicology*. 110: 170-176. doi: 10.1016/j.aquatox.2012.01.010
151. Ortiz-Santaliestra M. and Marco A. (2015). Influence of dissolved oxygen conditions on toxicity of ammonium nitrate to larval natterjack toads. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 69: 95-103. doi: 10.1007/s00244-014-0126-3
152. PAOT. Procuraduría Ambiental y del Ordenamiento Territorial del D.F. Estudio sobre la superficie ocupada en áreas naturales protegidas del Distrito Federal. Eot-03-2009.
153. PAPIIT IN216621. Efecto de compuestos nitrogenados en el estrés oxidante y la condición fisiológica durante el desarrollo embrionario y larval del ajolote *Ambystoma mexicanum*: un reto para su conservación en la Zona Lacustre de Xochimilco en un escenario post COVID-19, PAPIIT, DAGAPA-UNAM. Responsable Vanegas C.
154. Palen W., Williamson C., Clauser A. and Schindler D. (2005). Impact of UV-B exposure on amphibian embryos: linking species physiology and oviposition behaviour. *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences*. 272 (1569): 1227-1234. doi: 10.1098/rspb.2005.3058.
155. Park T., Lee J., Lee M., Park C., Lee C., Moon S. and Lee S. (2018). Development of water quality criteria of ammonia for protecting aquatic life in freshwater using species sensitivity distribution method. *Science of the Total Environment*. 634: 934-940. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.04.018.
156. Percino-Daniel R., Recuero E., Vázquez-Domínguez E., Zamudio K. and Parra-Olea G. (2016). All grown-up and nowhere to go: paedomorphosis and local adaptation in *Ambystoma* salamanders in the Cuenca Oriental of Mexico. *Biological Journal of the Linnean Society*. 118(3): 582-597. doi: 10.1111/bij.12750.
157. Pérez A., Pérez E. and Delgado G. (2019). La configuración turística de las periferias urbanorurales mediante estrategias gubernamentales. El caso de Xochimilco, Ciudad de México. *Investigaciones Turísticas* (17). pp. 126-148. doi: 10.14198/INTURI2019.17.06.
158. Peralta A. (2012). Xochimilco y su patrimonio cultural: memoria viva de un pueblo lacustre. Instituto Nacional de Antropología e Historia. (1ra. ed., pp.19-31). CONACULTA. ISBN: 978-607-484-203-6.
159. Piñon-Flores M., Suazo-Ortuño I., Ramírez-Herrejón J., Moncayo-Estrada R., and del-Val E. (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. doi: 10.1016/j.jnc.2021.126063.
160. Polo-Cavia N, Burraco P. and Gomez-Mestre I. (2016). Low levels of chemical anthropogenic pollution may threaten amphibians by impairing predator recognition. *Aquatic Toxicology*. 172: 30-35. doi: 10.1016/j.aquatox.2015.12.019.
161. Ponce de León H., Cram H., Fernández L., Oropeza O., Ortíz P., Rosas P. y Vanegas P. (2017). Modelos conceptuales para el análisis del impacto de contaminantes. Un estudio del

- caso Xochimilco. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. (1ra. ed., pp.15-45). ISBN: 978-607-02-9069-5.
162. Poulsen R., Cedergreen N., Hayes T. and Hansen M. (2018). Nitrate: An Environmental Endocrine Disruptor? A Review of Evidence and Research Needs. *Environmental Science and Technology*. 52 (7): 3869-3887. doi: 10.1021/acs.est.7b06419.
163. Prokić M., Gavrić J., Petrović T., Despotović G., Gavrilović B., Radovanović T. and Pavlović S. (2019). Oxidative stress in *Pelophylax esculentus* complex frogs in the wild during transition from aquatic to terrestrial life. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 234: 98-105. doi: 10.1016/J.CBPA.2019.05.004.
164. Ramos A., Mena-González H. and Zambrano L. (2021). The potential of temporary shelters to increase survival of the endangered Mexican axolotl. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*. 31 (6): 1535-1542. doi: 10.1002/aqc.3520.
165. Randall D. and Tsui T. (2002). Ammonia toxicity in fish. *Marine pollution bulletin*. 45 (1-12): 17-23. doi: 10.1016/S0025-326X(02)00227-8.
166. Rendón F. (2010). Tabla de desarrollo embrionario de la rana sabanera *Dendropsophus labialis*: *Hylidae* en cautiverio. Tesis para obtener el grado de Biólogo. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. pp. 12-20.
167. Repetto J. y Repetto K. (2009). Tránsito de los Xenobióticos en el organismo. En *Toxicología Fundamental* (4ta. ed., Vol.1., pp.59-113). Díaz de Santos. ISBN: 978-84-9052-306-3.
168. Rizzo A., Adorni L., Montorfano G., Rossi F., and Berra, B. (2007). Antioxidant metabolism of *Xenopus laevis* embryos during the first days of development. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 146 (1): 94-100. doi: 10.1016/j.cbpb.2006.09.009.
169. Robles-Mendoza C, García C., Cram S., Hernández M. y Vanegas C. (2009). Organophosphorus pesticides effect on early stages of the axolotl *Ambystoma mexicanum* (Amphibia: Caudata). *Chemosphere*. 74: 703-709. doi: 10.1016/j.chemosphere.2008.09.087.
170. Robles M., García C. and Vanegas R. (2009b). Maintenance media for the axolotl *Ambystoma mexicanum* juveniles (Amphibia: Caudata). *Hidrobiológica*. 19(3): 205-210. ISSN: 0188-8897.
171. Rojas T. (1991). La agricultura en la época prehispánica. La agricultura en tierras mexicanas desde sus orígenes hasta nuestros días. México, D.F.: Consejo Nacional para la Cultura y las Artes Grijalbo. No. 338.10972 A3
172. Romano N. and Zeng C. (2013). Toxic effects of ammonia, nitrite, and nitrate to decapod crustaceans: a review on factors influencing their toxicity, physiological consequences, and coping mechanisms. *Reviews in Fisheries Science*, 21 (1), 1-21. doi: 10.1080/10641262.2012.753404.
173. Romero A. (2021). Ajolotes, especies endémicas mexicanas en peligro de extinción. *Biología y Sociedad*. 4 (7): 10-19. doi: 10.29105/bys4.7-16.

174. Rodríguez E. (2011) Inducción de metalotioneínas como biomarcador de exposición in situ a metales en *Ambystoma mexicanum*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. pp. 82.
175. Said R. and Nassar S. (2022). Mortality, energy reserves, and oxidative stress responses of three native freshwater mussels to temperature as an indicator of potential impacts of climate change: A laboratory experimental approach. *Journal of Thermal Biology*. 104: 103154. doi: 10.1016/j.jtherbio.2021.103154.
176. Sámano C., González-Barrios R., Castro-Azpíroz M., Torres-García D., Ocampo-Cervantes J., Otero-Negrete J. and Soto-Reyes E. (2021). Genomics and epigenomics of axolotl regeneration. *International Journal of Developmental Biology*. 65: 465-474. doi: 10.1387/ijdb.200276cs.
177. Sanabria J., Bedoya L. and Sánchez J. (2009). Proceso ANAMMOX una aplicación en ingeniería: Revisión general de los aspectos microbianos. *Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente*. (8): 83-92. ISSN: 1692-9918.
178. Sant K., Hansen J., Williams L., Tran N., Goldstone J., Stegeman J. and Timme-Laragy A. (2017). The role of Nrf1 and Nrf2 in the regulation of glutathione and redox dynamics in the developing zebrafish embryo. *Redox Biology*. 13: 207-218. doi: 10.1016/j.redox.2017.05.023.
179. Schloissnig S., Kawaguchi A., Nowoshilow S., Falcon F., Otsuki L., Tardivo P. and Tanaka E. (2021). The giant axolotl genome uncovers the evolution, scaling, and transcriptional control of complex gene loci. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 118 (15): e2017176118. doi: 10.1073/pnas.2017176118.
180. Schram E., Roques J., van Kuijk T., Abbink W., van De Heul J., de Vries P. and Flik G. (2014). The impact of elevated water ammonia and nitrate concentrations on physiology, growth and feed intake of pikeperch (*Sander lucioperca*). *Aquaculture*. 420: 95-104. doi: 10.1016/j.aquaculture.2013.10.027.
181. Scandalios J. (2005). Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 38: 995-1014. doi: 10.1590/s0100-879x2005000700003
182. Schuytema G. and Nebeker A. (1999). Comparative effects of ammonium and nitrate compounds on pacific treefrog and african clawed frog embryos. *Environmental Contamination and Toxicology*. 36: 200-206. doi: 10.1007/s002449900461.
183. Shinn C., Marco A. and Serrano L. (2008). Inter and intra-specific variation on sensitivity of larval amphibians to nitrite. *Chemosphere*. 71 (3): 507-514. doi: 10.1016/j.chemosphere.2007.09.054.
184. Smith G., Temple K., Vaala D. and Dingfelder H. (2005). Effects of nitrate on the tadpoles of two ranids (*Rana catesbeiana* and *Rana clamitans*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 49 (4): 559-562. doi: 10.1007/s00244-005-0004-0.

185. Soria L.F.J. (2004). Espacio natural y tiempo histórico: una fusión de horizontes. Parque Ecológico de Xochimilco en el Distrito Federal, México. En Investigación y Diseño. Anuario de Posgrado, UAM-X, CyAD. pp. 157-182. ISBN 9703107207.
186. Steinberg C. (2003). Ecology of humic substances in freshwaters: determinants from geochemistry to ecological niches. Springer Science and Business Media. (3rd. ed., pp.177-188). ISBN: 978-3540439226.
187. Stuart S., Hoffmann M., Chanson J., Cox N., Berridge R., Ramani P. and Young B. (2008). Threatened amphibians of the world. IUCN and Conservation International. (1st ed., pp.135-145). Lynx Edicions. ISBN: 978-84-96553-41-5.
188. Svartz G., Aronzon C. and Coll C. (2015). Comparative sensitivity among early life stages of the South American toad to cypermethrin-based pesticide. Environmental Science and Pollution Research. 23 (3): 2906-2913. doi: 10.1007/s11356-015-5547-7.
189. Swann P. (1975). The toxicology of nitrate, nitrite and n-nitroso compounds. Journal of the Science of Food and Agriculture. 26 (11): 1761-1770. doi: 10.1002/jsfa.2740261119.
190. Taylor E., Jordan, D. and Coote, J. H. (1999). Central control of the cardiovascular and respiratory systems and their interactions in vertebrates. Physiology. 79 (3): 855-916. doi: 10.1152/physrev.1999.79.3.855.
191. Terhag J. Cavara N. and Hollmann M. (2010). Cave Canalem: How endogenous ion channels may interfere with heterologous expression in *Xenopus* oocytes. Methods. 51: 66-74. doi: 10.1016/j.ymeth.2010.01.034.
192. Terrones M. (2006). Xochimilco sin arquetipo. Historia de una integración urbana acelerada en el siglo XX. Scripta Nova: Revista Electrónica de Geografía y Ciencias Sociales. (Vol.10.). Disponible en línea: <https://revistes.ub.edu/index.php/ScriptaNova/article/view/1245>.
193. Timme-Laragy A., Hahn M., Hansen J., Rastogi A. and Roy M. (2018). Redox stress and signaling during vertebrate embryonic development: regulation and responses. Seminars in Cell and Developmental Biology. 80: 17-28. doi: 10.1016/j.semcdb.2017.09.019.
194. Tortora G., Funke B. and Case C. (2016). Microbiology: an Introduction. (12th. ed., vol.1., pp.774-776). Pearson. ISBN-13: 9780135789377.
195. UAM. (2016) CIBAC, único espacio de producción masiva de crías de ajolote en el mundo. En Semanario de la UAM, Órgano informativo de la Universidad Autónoma Metropolitana. (vol. 22., pp.4-5) ISSN: 1407-177x
196. Vadillo G. (2015). Efecto subletal del cadmio en el ajolote *Ambystoma mexicanum*: Ritmicidad diaria del Metabolismo Aerobio y respuestas al estrés oxidante. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. pp. 71.
197. Valavanidis A., Vlahogianni T., Dassenakis M. and Scoullou, M. (2006). Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. Ecotoxicology and Environmental Safety. 64: 178-189. doi: 10.1016/j.ecoenv.2005.03.013.

198. Valencia-Castañeda G., Frías-Espericueta M., Vanegas-Pérez R., Chávez-Sánchez M. and Páez-Osuna F. (2019). Toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to *Litopenaeus vannamei* juveniles in low-salinity water in single and ternary exposure experiments and their environmental implications. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 70: 103193. doi: 10.1016/j.etap.2019.05.002.
199. Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M., Mazur M. and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 39 (1): 44-84. doi: 10.1016/j.biocel.2006.07.001.
200. Vanegas C., Rosas I., Ponce de León C. y Cram S. (2017). Evaluación de la materia orgánica en la Zona Lacustre Urbano-Agrícola de Xochimilco: Estrategia para seleccionar puntos focales de descargas de Aguas tratadas. SECITI D.F. - Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. pp.95.
201. Von Bertrab A. (2013). De tilapias, chinampas y ajolotes: discursos sobre la restauración ecológica en el lago de Xochimilco. Tesis de doctorado. Posgrado en Ciencias Políticas y Sociales, Universidad Nacional Autónoma de México. pp. 57-99.
202. Voss S., Woodcock M. and Zambrano L. (2015). A tale of two axolotls. *BioScience*. 65 (12): 1134-1140. doi: 10.1093/biosci/biv153.
203. Wagner N., Lötters S., Veith M. and Viertel B. (2015). Effects of an environmentally relevant temporal application scheme of low herbicide concentrations on larvae of two anuran species. *Chemosphere*. 135: 175-181. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.04.028.
204. Wake D. y Koo M. (2018). Amphibians. *Current Biology*. 28 (21): R1237-R1241. doi: 10.1016/j.cub.2018.09.028.
205. Wang M., Chai L., Zhao H., Wu M. and Wang H. (2015). Effects of nitrate on metamorphosis, thyroid and iodothyronine deiodinase expression in *Bufo gargarizans* larvae. *Chemosphere*. 139: 402-409. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.07.037.
206. Weihrauch D., Wilkie P. and Walsh P. (2009). Ammonia and urea transporters in gills of fish and aquatic crustaceans. *Journal of Experimental Biology*. 212 (11): 1716-1730. doi: 10.1242/jeb.024851.
207. Weil R. and Magdoff F. (2005). Significance of soil organic matter to soil quality and health. *Soil Organic Matter in Sustainable Agriculture*. Pp. 1-43. ISBN: 0849312949.
208. Weir S., Yu S., Scott D. and Lance S. (2019). Acute toxicity of copper to the larval stage of three species of ambystomatid salamanders. *Ecotoxicology*. 28 (9): 1023-1031. doi: 10.1007/s10646-019-021025-5.
209. Wells K. (2007) *The ecology and behavior of amphibians*. University of Chicago Press, Chicago. (pp. 117-121; 790-792). ISBN: 978-0-226-89334-1.
210. Whiles M., Lips K., Pringle C., Kilham S., Bixby R., Brenes R. and Peterson S. (2006). The effects of amphibian population declines on the structure and function of Neotropical stream

- ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment*. 4 (1): 27-34. doi: 10.1890/1540-9295(2006)004[0027:teoapd]2.0.co;2.
211. Wilkie M. (2002). Ammonia excretion and urea handling by fish gills: present understanding and future research challenges. *Journal of Experimental Zoology*. 293 (3): 284-301. doi: 10.1002/jez.10123.
212. Wright P. and Wood C. (2009). A new paradigm for ammonia excretion in aquatic animals: role of Rhesus (Rh) glycoproteins. *The Journal of Experimental Biology*. 212 (15): 2303-2312. doi: 10.1242/jeb.023085.
213. Wynia S. and Smith B. (2017). Nitrosothiol formation and S-nitrosation signaling through nitric oxide synthases. *Nitric Oxide*. 63: 52-60. doi: 10.1016/j.niox.2016.10.001.
214. Xie L., Zhang Y., Qu Y., Chai L., Li X. and Wang H. (2019). Effects of nitrate on development and thyroid hormone signaling pathway during *Bufo gargarizans* embryogenesis. *Chemosphere*. 235: 227-238. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.06.177.
215. Xu Z., Cao J., Qin X., Qiu W., Mei J. and Xie J. (2021). Toxic effects on bioaccumulation, hematological parameters, oxidative stress, immune responses and tissue structure in fish exposed to ammonia nitrogen: A review. *Animals*. 11 (11): 3304. doi: 10.3390/ani11113304.
216. Yan J. and Hwang P. (2019). Novel discoveries in acid-base regulation and osmoregulation: a review of selected hormonal actions in zebrafish and medaka. *General and Comparative Endocrinology*. 277: 20-29. doi: 10.1016/j.ygcen.2019.03.007.
217. Zambrano L. and Hinojosa D. (1999). Direct and indirect effects of carp (*Cyprinus carpio*) on macrophyte and benthic communities in experimental shallow ponds in central Mexico. *Hydrobiologia*. 408: 131-138. doi: 10.1023/A:1017085129620.
218. Zambrano L., Vega E., Herrera G., Prado E. and Reynoso V. (2007). A population matrix model and population viability analysis to predict the fate of endangered species in highly managed water systems. *Animal Conservation*. 10 (3): 297-303. doi: 10.1111/j.1469-1795.2007.00105.x.
219. Zambrano L., Valiente E., and Vander M. (2010). Food web overlap among native axolotl (*Ambystoma mexicanum*) and two exotic fishes: carp (*Cyprinus carpio*) and tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Xochimilco, Mexico City. *Biological Invasions*. 12 (9): 3061-3069. doi: 10.1007/s10530-010-9697-8.
220. Zambrano L., Pacheco-Muñoz R. and Fernández T. (2018). Influence of solid waste and topography on urban floods: The case of Mexico City. *AMBIO*. 47 (7): 771-780. doi: 10.1007/s13280-018-1023-1.
221. Zambrano L., Rivas M. y Rojas R. (2021). Plan estratégico de restauración de tres espacios prioritarios en la Zona Chinampera de Xochimilco. Instituto de Biología, UNAM. Restauración Ecológica. pp. 79. Disponible en web: https://27a67edc-a247-44ec-9493-5882a96a9826.filesusr.com/ugd/862719_f0af8afae2bc42d285e4d6f5888aab44.pdf.

222. Zambrano L., Rivas M., Uriel-Sumano C., Rojas-Villaseñor R., Rubio M., Mena H. and Tovar-Garza A. (2020). Adapting wetland restoration practices in urban areas: Perspectives from Xochimilco in Mexico City. *Ecological Restoration*. 38 (2): 114-123. doi: 10.3368/er.38.2.114.

ANEXO 1. Concentración de compuestos nitrogenados (amonio, nitrito y nitrato)
en la zona lacustre de Xochimilco (2017, 2021).

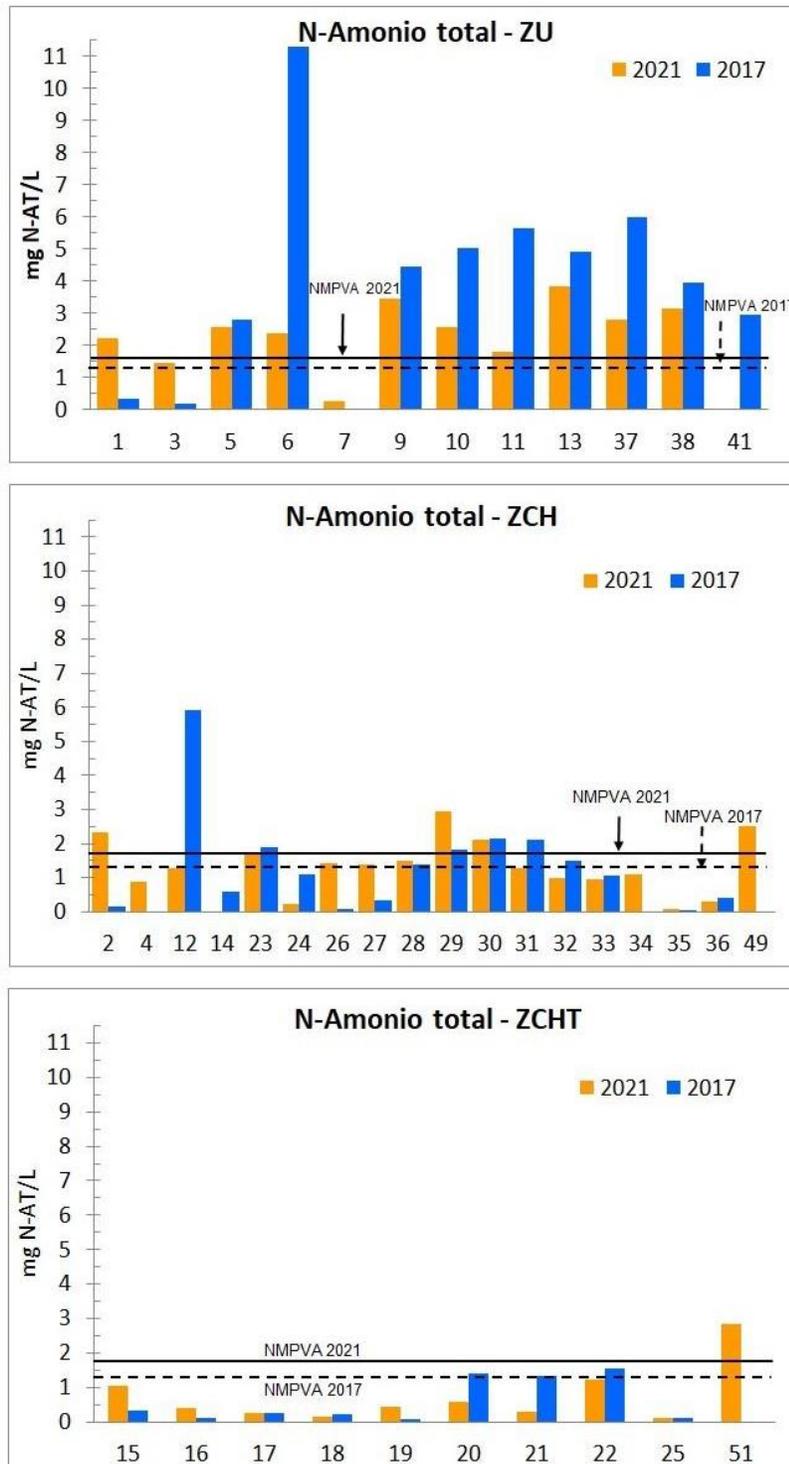


Fig. 31. Concentración de amonio (mg N-AT/L) en agua superficial de la zona lacustre de Xochimilco en el periodo 2017 y 2021 en los sitios de estudio correspondientes a: Zona Urbana (ZU), Zona Chinampera (ZCH) y Zona Chinampera de Transición (ZCHT). En cada figura las líneas horizontales denotan los Niveles Máximos Permisibles para la Vida Acuática para un periodo de exposición de 30 días (NMPVA-30d).

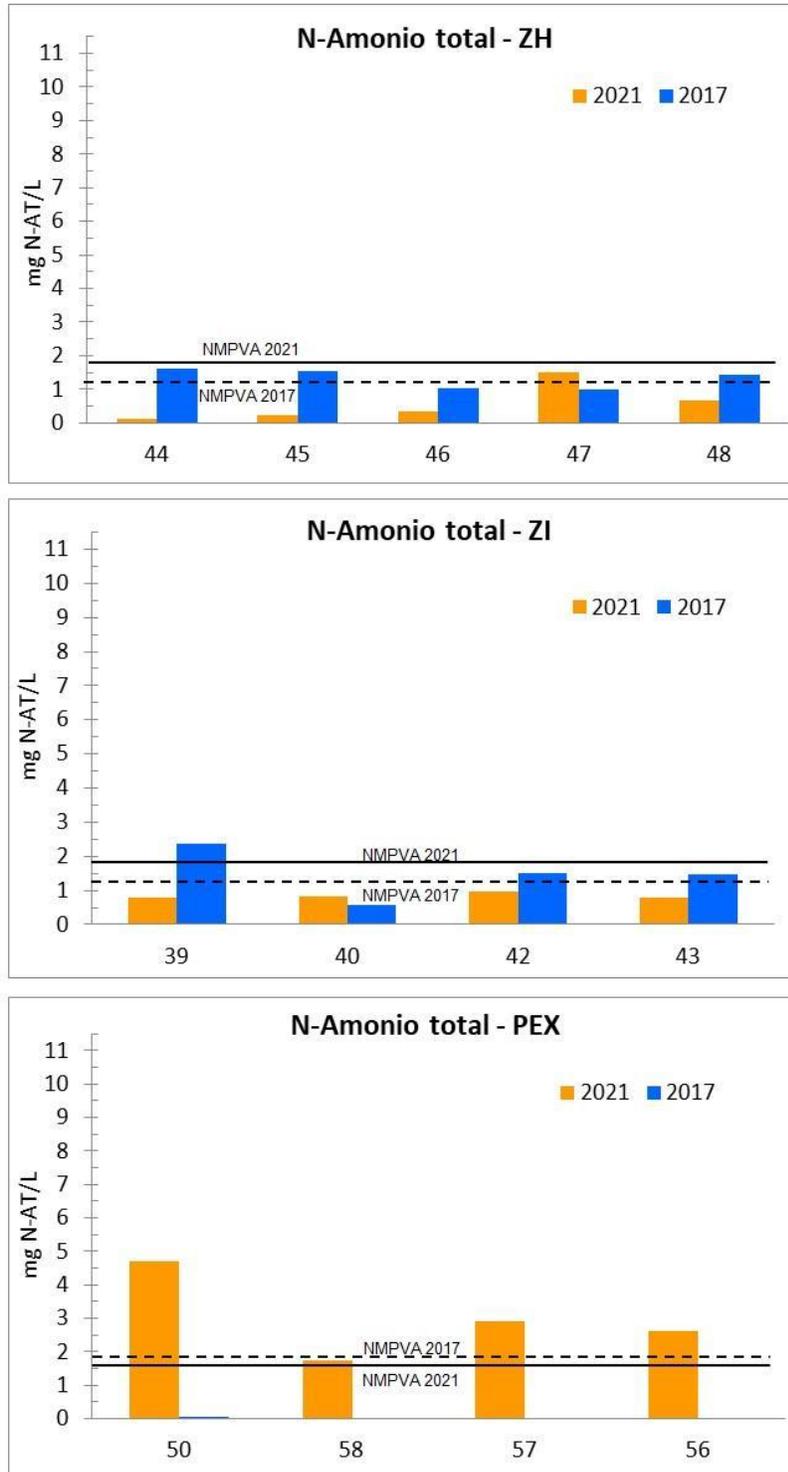


Fig. 32. Concentración de amonio (mg N-AT/L) en agua superficial de la zona lacustre de Xochimilco en el periodo 2017 y 2021 en los sitios de estudio correspondientes a: Zona de Humedales (ZH), Zona de Invernaderos (ZI) y Parque Ecológico de Xochimilco (PEX). En cada figura las líneas horizontales denotan los Niveles Máximos Permisibles para la Vida Acuática para un periodo de exposición de 30 días (NMPVA-30d).

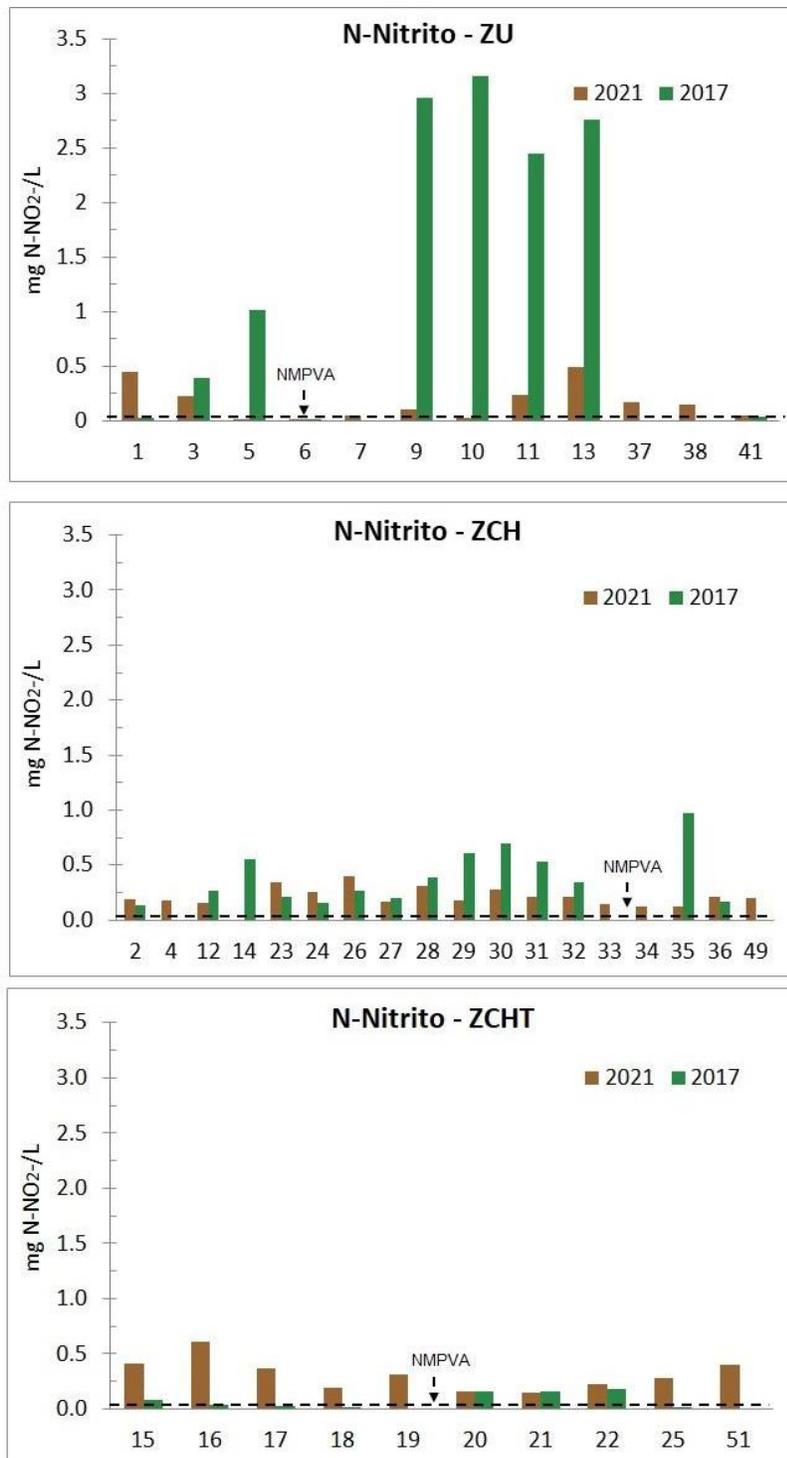


Fig. 33. Concentración de nitrito (mg N-NO₂⁻/L) en agua superficial de la zona lacustre de Xochimilco en el periodo 2017 y 2021 en los sitios de estudio correspondientes a: Zona Urbana (ZU), Zona Chinampera (ZCH) y Zona Chinampera de Transición (ZCHT). En cada figura las líneas horizontales denotan los Niveles Máximos Permisibles para la Vida Acuática para un periodo de exposición de 30 días (NMPVA-30d).

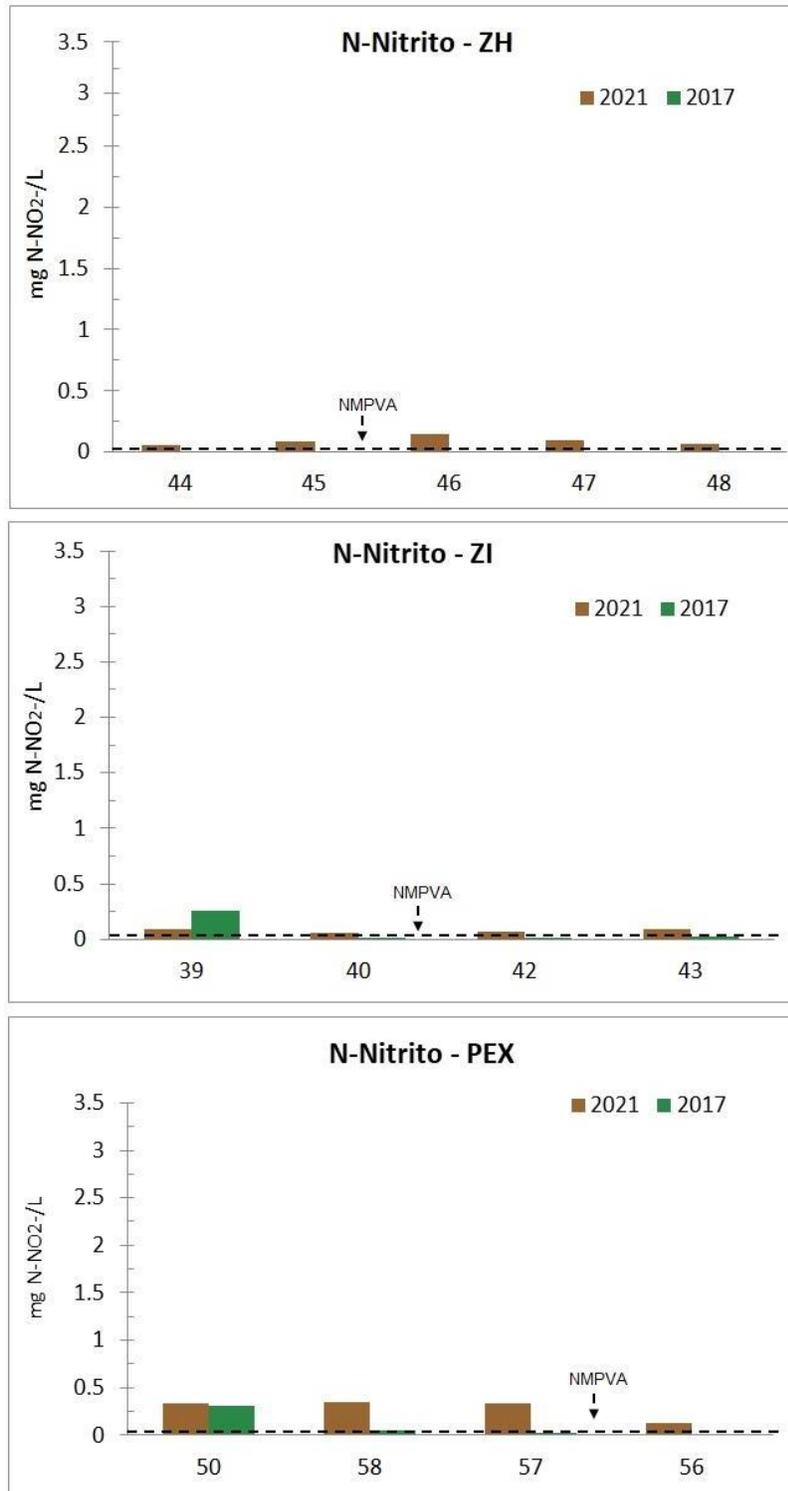


Fig. 34. Concentración de nitrito (mg N-NO₂/L) en agua superficial de la zona lacustre de Xochimilco en el periodo 2017 y 2021 en los sitios de estudio correspondientes a: Zona de Humedales (ZH), Zona de Invernaderos (ZI) y Parque Ecológico de Xochimilco (PEX). En cada figura las líneas horizontales denotan los Niveles Máximos Permisibles para la Vida Acuática para un periodo de exposición de 30 días (NMPVA-30d).

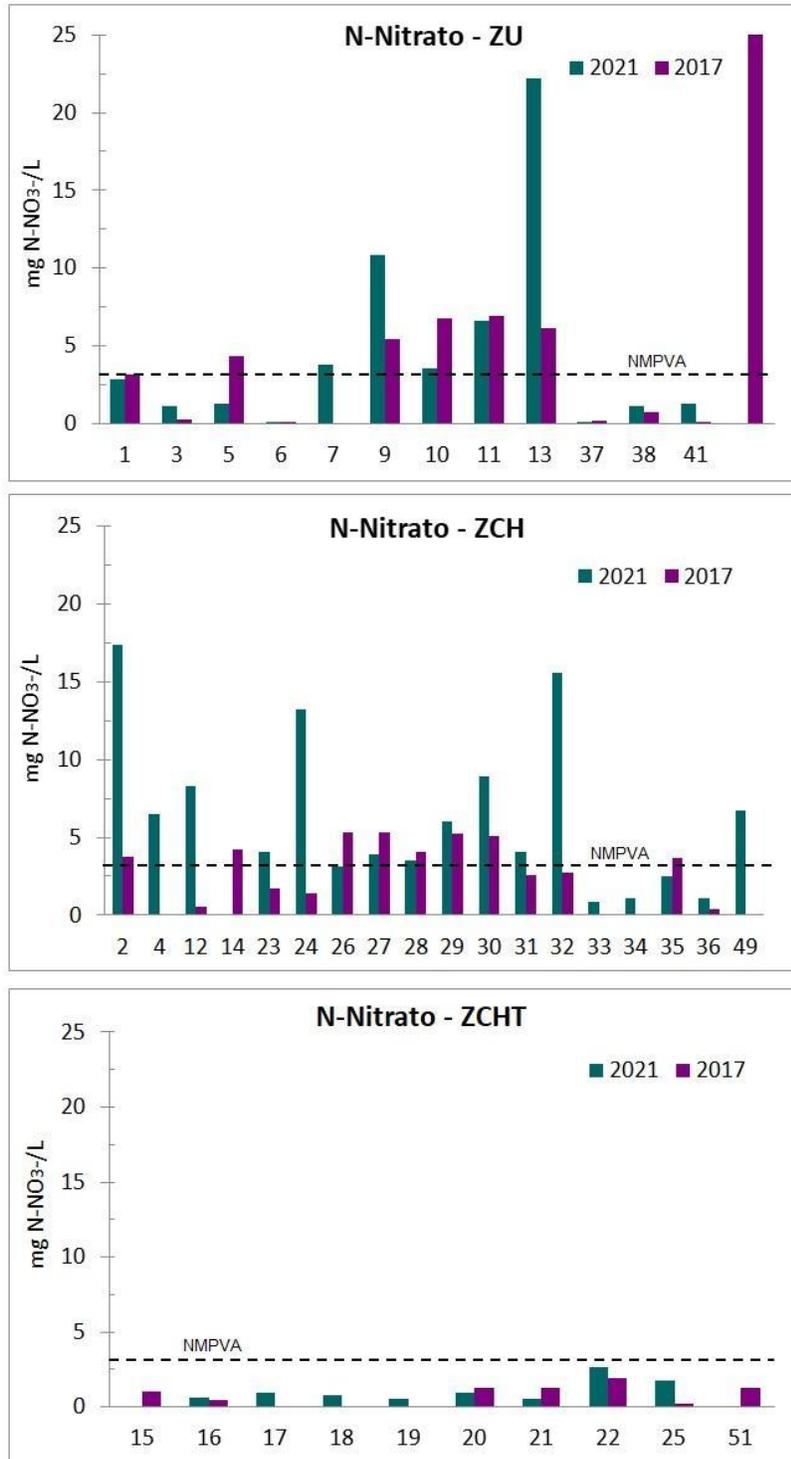


Fig. 35. Concentración de nitrato (mg N-NO₃⁻/L) en agua superficial de la zona lacustre de Xochimilco en el periodo 2017 y 2021 en los sitios de estudio correspondientes a: Zona Urbana (ZU), Zona Chinampera (ZCH) y Zona Chinampera de Transición (ZCHT). En cada figura las líneas horizontales denotan los Niveles Máximos Permisibles para la Vida Acuática para un periodo de exposición de 30 días (NMPVA-30d).

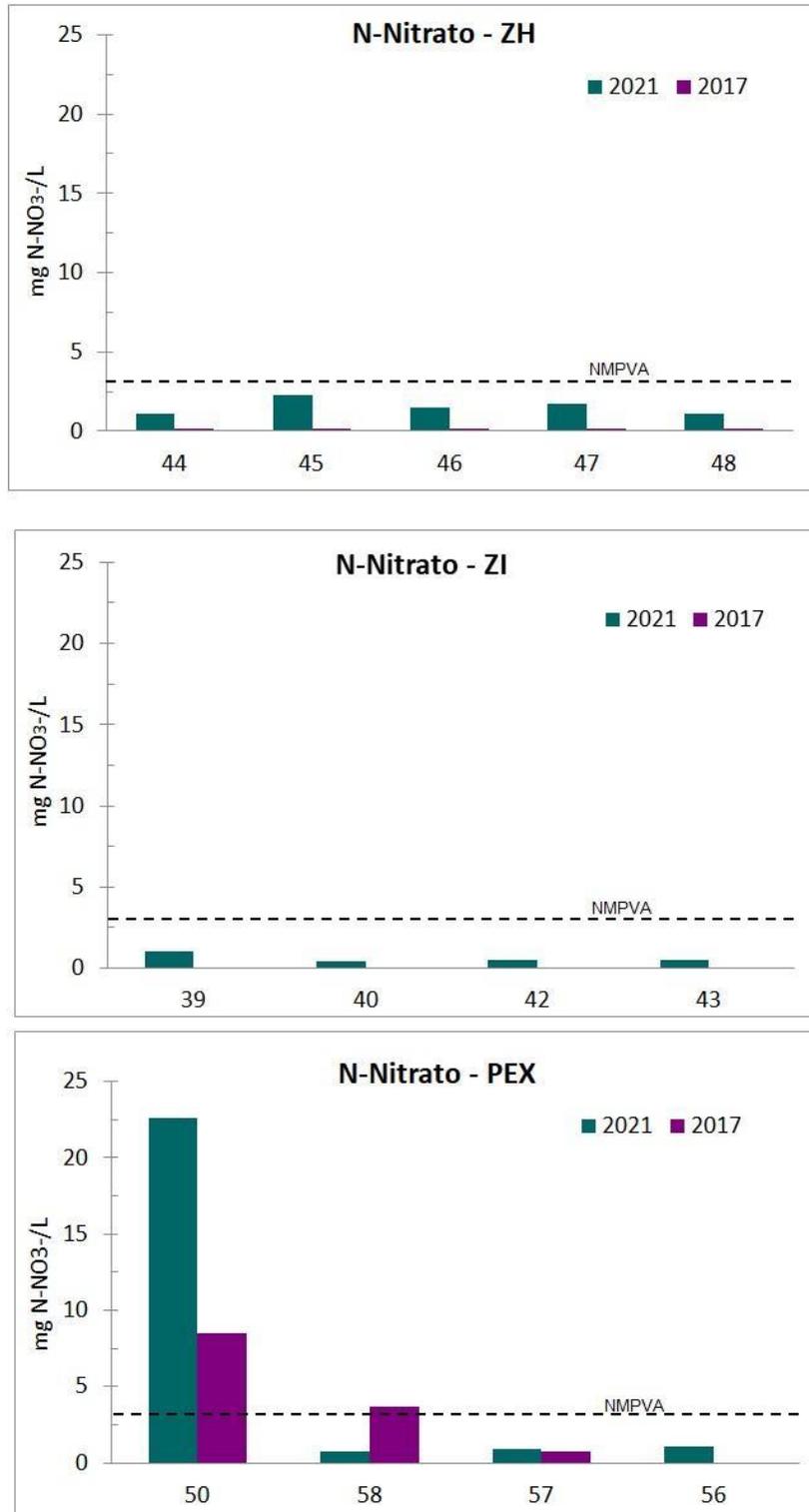


Fig. 36. Concentración de nitrato (mg N-NO₃-/L) en agua superficial de la zona lacustre de Xochimilco en el periodo 2017 y 2021 en los sitios de estudio correspondientes a: Zona de Humedales (ZH), Zona de Invernaderos (ZI) y Parque Ecológico de Xochimilco (PEX). En cada figura las líneas horizontales denotan los Niveles Máximos Permisibles para la Vida Acuática para un periodo de exposición de 30 días (NMPVA-30d).