

<https://orcid.org/0000-0002-1602-1688>

<https://orcid.org/0000-0002-6589-2965>

<https://orcid.org/0000-0003-4888-8953>

# AMBYSTOMA MEXICANUM, LA IMPORTANCIA DE ESTA ESPECIE EN LA MEDICINA REGENERATIVA Y ESTRATEGIAS PARA SU CONSERVACIÓN

## AMBYSTOMA MEXICANUM, THE RELEVANCE OF THIS SPECIES IN REGENERATIVE MEDICINE AND STRATEGIES FOR ITS CONSERVATION

Noel Alejandro Antonio-Tobón, Gabriela Elizabeth Castolo-Arellano y Omar Vásques-Jiménez.

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Biológicas

Licenciatura en Biotecnología

[noela.antoniotobon@viep.com.mx](mailto:noela.antoniotobon@viep.com.mx), [gabrielae.castoloarellano@viep.com.mx](mailto:gabrielae.castoloarellano@viep.com.mx),

[omar.vasquezjimenez@viep.com.mx](mailto:omar.vasquezjimenez@viep.com.mx)

### Resumen

El *Ambystoma mexicanum* es una especie endémica de México que atrae los reflectores de la comunidad científica gracias a sus capacidades regenerativas y a su particular genoma, lo que lo vuelve un modelo animal ideal para la investigación en el área de terapia de tejidos, otra parte de esta atención se debe a que se encuentra en peligro de extinción, lo que ha llevado a generar estrategias para su conservación. El objetivo de este artículo es divulgar información importante sobre la situación actual del *Ambystoma mexicanum*, abordando sus características genómicas, su mecanismo de regeneración y las propuestas para su preservación.

**Palabras clave:** Ajolote, Genoma, Conservación, Hábitat, Medicina regenerativa, *Ambystoma mexicanum*, endémico.

## Abstract

*Ambystoma mexicanum* is an endemic species of Mexico that attracts the spotlight of the scientific community thanks to its regenerative capacities and its particular genome, which makes it an ideal animal model for research in the area of tissue therapy, another part of this attention is because it is in danger of extinction, which has led to the generation of strategies for its conservation. This article aims to disseminate important information on the current situation of *Ambystoma mexicanum*, addressing its genomic characteristics, its regeneration mechanism, and the proposals for its preservation.

**Keywords:** Axolotl, Genome, Conservation, Habitat, Regenerative medicine, *Ambystoma mexicanum*, endemic.

## 1. Introducción

El ajolote de Xochimilco (*Ambystoma mexicanum*) pertenece al género de anfibios *Ambystoma* y a la familia *Ambystomatidae* que comprende 32 especies, las cuales se distribuyen desde el sur de Canadá hasta el centro de México (Ivette., et al 2020). Entre las 16 especies mexicanas de *Ambystoma*, la más estudiada es *Ambystoma mexicanum*, y es considerada una especie bandera de la diversidad en la zona centro de México. Actualmente se encuentra en peligro de extinción por diversos factores; entre ellos: la actividad del hombre, la contaminación, el cambio climático y la introducción de especies a su hábitat.

En los últimos años ha existido un creciente interés por esta enigmática especie debido a dos factores, un fenómeno llamado “neotenia”, que es la capacidad de conservar las características juveniles en estado adulto y a su maquinaria regenerativa, lo que le permite reconstruir diversos órganos en cualquier etapa de su vida.

Gracias a la regeneración que presenta, esta especie se ha considerado como un modelo de estudio para la terapia de tejidos y la medicina regenerativa, llamando la atención de los investigadores sobre los diversos factores que la hacen posible. Por lo antes mencionado se ha aumentado la reproducción de ajolotes aprovechando que es una

especie de fácil mantenimiento en laboratorios, pero estos especímenes no tienen variabilidad genética, lo que puede conducir a que presenten enfermedades, por este motivo se han planteado estrategias para la conservación de esta especie dentro de su hábitat natural o su reubicación en santuarios en Xochimilco.

## 2. Regeneración

La regeneración es un fenómeno biológico que consiste en la reposición o reemplazo de células, tejidos, órganos o, incluso, estructuras más complejas desde fragmentos, una vez que los organismos fueron afectados o amputados. A principios del siglo XX, Thomas Morgan planteó dos estrategias de regeneración tomando en cuenta los dos modelos más estudiados en ese entonces:

La amputación de la extremidad de los anfibios urodelos lleva a la construcción de una masa de células indiferenciadas llamada “blastema” que se forma por la proliferación de las células; a este mecanismo lo llamó **epimorfosis**.

Por otra parte, en la regeneración de la planaria no se formaba el blastema pero él pudo notar la plasticidad de todo el cuerpo para recobrar su morfología y entonces supuso que la modificación en general del organismo para recobrar su morfología era más relevante que la proliferación celular; a este proceso lo llamó **morfalaxis**.

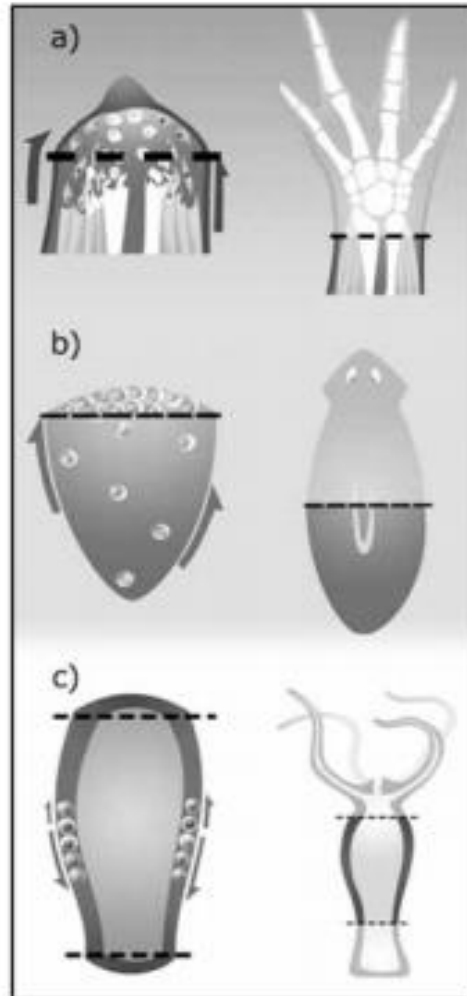


Figura 1. Epimorfosis y morfalaxis. La regeneración de la extremidad del ajolote (a) y de la planaria (b) están mediadas por la proliferación celular y formación de un blastema en el sitio de corte, por lo que son considerados procesos epimórficos; por otro lado, en las hidras (c), la amputación del pie y/o la decapitación no forman blastemas y no hay proliferación en los sitios de corte, las células en los sitios de corte forman las estructuras a regenerar por procesos morfaláxicos. (Jesús Chimal-Monroy, Donovan Correa Gallegos y Claudio Iván Galván Hernández, 2011)

## 2.1 Mecanismos de la regeneración

En términos generales se considera que la regeneración puede ocurrir por cuatro diferentes mecanismos, cabe aclarar que estos pueden ocurrir de manera simultánea en las especies.

### 2.1.1 Regeneración mediada por células troncales

Para que se lleve a cabo este proceso es necesaria la presencia de un nicho de células troncales. Uno de los ejemplos que más se ha estudiado es el que ocurre en la médula ósea cuya función es la regeneración constante de las células sanguíneas. Otro ejemplo

muy conocido es el observado durante el reemplazo del epitelio intestinal y la formación de los tejidos que ocurre bajo una señalización a través de la vía “WNT” y es debido a que “las células troncales residentes del tejido reciben señales que les indican que deben iniciar el programa de diferenciación celular” (Jesús Chimal-Monroy, Donovan Correa Gallegos y Claudio Iván Galván Hernández, 2011)

### **2.1.2 Epimorfosis**

Como ya se mencionó anteriormente este término fue originalmente acuñado por Thomas Morgan y se refiere a la formación de un tejido u órgano que va a derivar a partir de una estructura de células indiferenciadas llamada “blastema”. Otra característica importante de este mecanismo es la proliferación celular. Este tipo de regeneración es el que usan los ajolotes.

### **2.1.3 Morfalaxis**

Este mecanismo de regeneración tiene como fundamento la reorganización de los tejidos que ya existen y cabe destacar que la proliferación celular, a diferencia de la epimorfosis, es reducida o nula. Un ejemplo de este tipo de regeneración es el que llevan a cabo las hidras que son capaces de regenerarse por completo a partir de un fragmento del organismo progenitor, el organismo formado es exactamente igual al progenitor pero con un tamaño más pequeño aunque con el tiempo este organismo crecerá hasta alcanzar su tamaño original.

### **2.1.4 Regeneración compensatoria**

En este mecanismo sí ocurre la proliferación de células para restaurar el tamaño original del órgano dañado la diferencia radica en que las células que se dividen mantienen sus funciones diferenciadas produciendo células similares en lugar de formar una masa de células indiferenciadas. El mejor ejemplo para describir este mecanismo es el que ocurre en el hígado.

Cualquiera que sea el mecanismo empleado por una determinada especie, es importante destacar que tanto las células originales como las que proliferan son capaces de identificar su posición espacial en el tejido u órgano y de adquirir la forma adecuada para

asegurar el buen funcionamiento de la estructura regenerada, a este proceso se le llama morfogénesis.

## 2.2 Regeneración miocárdica de *Ambystoma mexicanum*, un ejemplo de la increíble maquinaria.

En un estudio realizado por el Departamento de Fisiología del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez en la Ciudad de México se usaron 20 organismos adultos de *Ambystoma mexicanum* de 8 a 12 meses de edad y se realizó resección ventricular en el corazón para determinar la naturaleza de la restitución del tejido. En términos generales esta investigación llegó a 4 principales conclusiones que se citan a continuación

El espacio en el cual se hizo el corte es ocupado gradualmente por tejido muscular.

- Tal tejido proviene de un proceso de proliferación de cardiomiocitos.
- La regeneración del ajolote es por medio de la restitución del tejido eliminado por el corte ventricular “sin rebasar los límites físicos del contorno del ventrículo, por lo que se trata de una regeneración de tipo epimórfica” (Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, 2005)
- Representa un modelo potencial para estudiar los mecanismos que regulan la regeneración miocárdica en vertebrados adultos in vivo, lo cual permitiría tener los fundamentos básicos para a futuro abordar aspectos terapéuticos pertinentes. (Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, 2005)

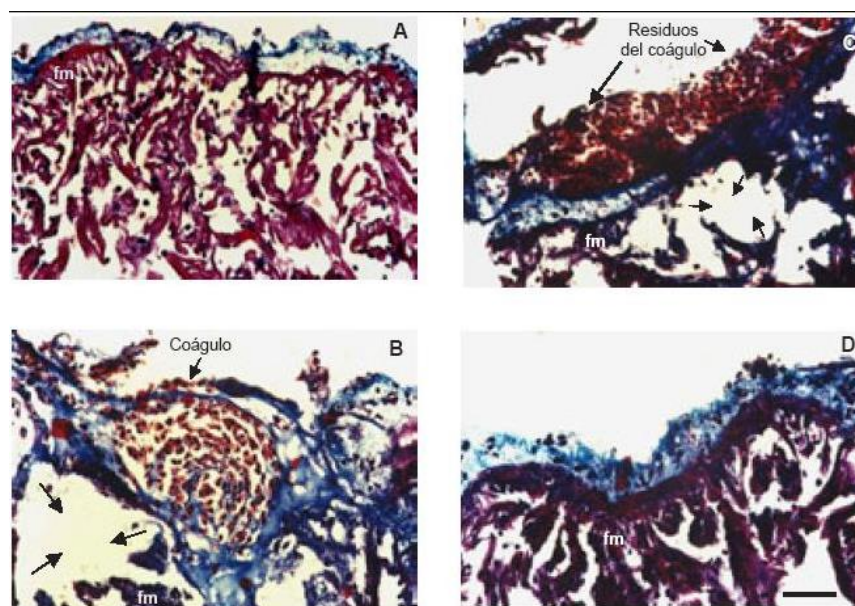


Figura 2. Microfotografías en las que se muestra el proceso de regeneración después del corte ventricular en el miocardio de *Ambystoma mexicanum*. (Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, 2005)

### 2.3 *Ambystoma mexicanum* como organismo modelo de estudio para la medicina regenerativa.

En un modelo de estudio se emplean animales de especie diferente a la humana pero que tengan una composición de tejidos similar al del humano. Uno de los modelos favoritos son los anfibios debido a que incluyen gran diversidad taxonómica, tolerancia a grandes variaciones en el ambiente y fácil mantenimiento en cautiverio, todas estas características les han ganado su lugar en los laboratorios de investigación, constituyendo un tercio de los modelos animales. Y aunque existen una gran variedad de especies que presentan una capacidad regenerativa a partir de los procesos que ya hemos mencionado, las salamandras se han convertido en organismos modelo de la regeneración. Específicamente el ajolote es una de las especies más utilizadas para investigaciones acerca de terapia de tejidos y medicina regenerativa debido a sus características biológicas y genómicas y por su increíble capacidad de regenerar casi cualquier parte de su cuerpo y en prácticamente cualquier etapa de su vida. Además esta especie es fácil de mantener en condiciones de laboratorio.

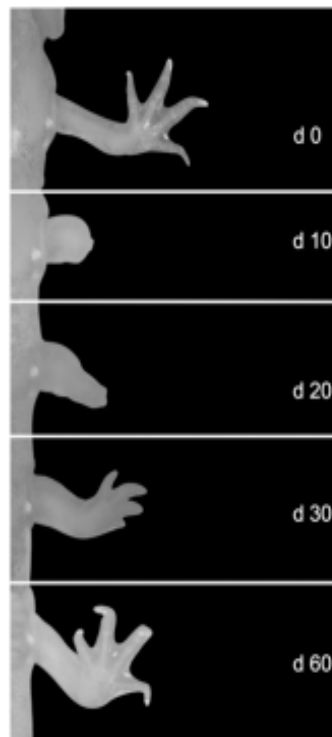


Figura 3. Regeneración de la extremidad del ajolote. (Jesús Chimal-Monroy, Donovan Correa Gallegos y Claudio Iván Galván Hernández, 2011)



Para comprender la relevancia de los anfibios y específicamente del ajolote como modelo en la investigación médica hemos recogido algunos ejemplos de modelos animales que se utilizan hoy en día con su respectivo campo experimental:

**Tabla 1. Resumen de los modelos experimentales realizados con anfibios.**

Área científica	Experimento	Especie anfibia
Fisiología cardiovascular	Desarrollo cardiaco	Ajolote ( <i>Ambystoma mexicanum</i> )
	Reparación del daño tras infarto	Tritón ( <i>Notophthalmus viridescens</i> )
	Permeabilidad vascular	Rana africana de uñas ( <i>Xenopus laevis</i> )
Fisiología del musculo esquelético	Cinética de alta velocidad	Ajolote ( <i>Ambystoma mexicanum</i> )
	Canales de membrana	Rana leopardo ( <i>Rana pipiens</i> )
	Corrientes de activación de calcio	Sapo de las Montañas Rocosas
Fisiología respiratoria	Desarrollo del sistema respiratorio	Salamandras ( <i>fam. Plethodontidae</i> )
Función renal	Desarrollo del riñón	Sapo marino ( <i>Bufo marinus</i> )

El ajolote supone un excelente modelo en el campo del desarrollo cardiaco ya que se tiene evidencia sobre la existencia de algunos individuos que sufren una mutación que provoca que se les forme el corazón pero que nunca llegue a latir debido a que sus miofibrillas están mal organizadas. Esto resulta muy impresionante ya que en otros vertebrados cuando se presenta una mutación similar resulta mortal durante las primeras etapas de desarrollo, sin embargo, el ajolote es capaz de vivir y continuar su desarrollo durante varios días. Otra característica muy importante que confiere a los ajolotes ser un excelente modelo animal es su capacidad para regenerar miocitos (como se mencionó en el apartado 2.2). Este mecanismo se está utilizando en modelos para el estudio de la recuperación miocárdica tras un infarto (Stocum, 2003). Cabe aclarar que realmente los miocitos de los anfibios no se regeneran sino que tienen capacidad potencial para dividirse y “repoblar” la zona cardiaca dañada (Bettencourt-Diaz et al., 2003).

## 2.4 El futuro de la medicina regenerativa es mexicano

La aplicación de la medicina regenerativa aún está en progreso y han existido muchos avances gracias a los modelos animales que se emplean en la investigación, pero para lograr un gran desarrollo en este ámbito se deben estudiar el máximo número especies posibles para poder realizar estudios comparativos y generar estrategias. Afortunadamente el 2017 y el 2018 han sido los años de más avances en la investigación de la maquinaria regenerativa del ajolote, se logró la secuenciación de su genoma y se identificó que carecen del gen Pax3 que es un regulador clave en la expresión de genes



durante el desarrollo de los vertebrados. También se identificaron “bloques” genéticos que controlan la regeneración de sus extremidades.

De igual manera la investigación encabezada por el Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (Langebio) del Instituto Politécnico Nacional (IPN) titulada “Ciencias ómicas aplicadas al estudio de procesos de desarrollo como regeneración, células madre y metamorfosis en especies endémicas de salamandras mexicanas del género *Ambystoma*, como *Ambystoma mexicanum* (axolotl) o *Ambystoma velasci* tiene como objeto la obtención y caracterización de los transcriptomas de RNA mensajeros y de RNA no codificantes mediante la secuenciación de próxima generación para generar información útil de las bases moleculares de la regeneración que pueda ayudar a la comunidad en el área de la medicina regenerativa.

Esta investigación revela el papel central que debemos tener como país en el estudio de la biodiversidad nacional poniéndonos en competencia a nivel internacional en el estudio de diversas investigaciones de trascendencia mundial.

### 3. Genoma

Hablar del genoma de una especie tan fascinante como lo es el ajolote, es un tema que para nada es despreciable y mucho menos breve de abordar. Por años, la comunidad científica ha mantenido un especial interés en descifrar los enigmas escondidos dentro del código genético del *Ambystoma mexicanum*, particularmente por la capacidad de este anfibio para regenerar tanto sus extremidades como el tejido celular de sus órganos.

Sin embargo, algunas especies de anfibios cuentan con los genomas más grandes de entre todos los organismos existentes, pues proliferan los elementos repetitivos y expansión del tamaño de sus intrones (Weisrock, et.al., 2018). Y aunque el ajolote se ha considerado como una especie con un genoma de tamaño medio, con  $\sim 32 \times 10^9$  pb distribuidos entre 14 cromosomas haploides (Straus, 1971), aún faltan datos de su genoma por descifrar.

### 3.1 La misterios resueltos en el genoma

En las últimas décadas, diversos grupos de investigación alrededor del mundo han dedicado su tiempo y esfuerzo en obtener la mayor cantidad de datos genéticos y genómicos posibles sobre el ajolote. Sin embargo, la secuenciación completa del ajolote no se ha logrado hasta ahora. Debido al gran tamaño de su genoma, que es incluso 10 veces más grande que el del ser humano, hace que la secuenciación completa sea tanto costosa como lenta. No obstante, existen alternativas que nos ayudan a estudiar el genoma, exclusivamente en aquellos genes que se expresan en un tiempo y tejido específicos mediante la secuenciación masiva de moléculas de ARN (RNA-seq) (Woodcock et. al., 2017).

Se tienen disponibles datos transcriptómicos muy diversos para el ajolote mediante el perfil de ARNm y microARN de tejidos y extremidades con capacidad probada o potencial para regenerarse, como corazón, hígado, piernas, branquias y cola mediante el uso de ARN-seq y pequeños (Caballero et. al., 2018)

### 3.2 Ajolote nativo y ajolote de laboratorio, ¿no son lo mismo?

Otro de los retos a los que se enfrentan los grupos de investigación, es que el ajolote es, por desgracia, una especie que se encuentra en peligro crítico de extinción. Debido a esto, la población de ajolotes que se encuentra en cautiverio es reducida, teniendo que recurrir a la cría de ajolotes dentro de laboratorios. Es decir, que mientras dentro de los laboratorios la población de ajolotes florece, en la naturaleza, esta especie es rara de encontrar dentro de su hábitat original, el lago de Xochimilco. Para ponernos en contexto, en los últimos años se ha popularizado la imagen del ajolote blanco, y probablemente sea el primer color que se te viene en mente al pensar en uno; sin embargo, durante varias generaciones dentro la población nativa de ajolotes, este color blanco es una variante del gen endotelina 3, que se presenta únicamente en ajolotes macho y mismos que dentro de la naturaleza eran raros de encontrar, ya que el color predominante de esta especie es verde oscuro a gris (Figura 4).



Figura 4. Dos ajolotes; a la izquierda, un ajolote gris, color predominante de la especie. A la derecha un ajolote albino, variante menos predominante. (Recuperado de O.R.O.)

### 3.3 Hablemos de los ajolotes albinos

Como mencionamos anteriormente, estos ajolotes albinos representan a un porcentaje menor poco dominante, genéticamente hablando, dentro de la población nativa de ajolotes. Pero ¿qué representa esta variante para los científicos? Sorprendentemente, este fenotipo albino no surgió dentro del linaje de los ajolotes, sino que fue que fue resultado de una hibridación interespecífica cuando en 1962, una salamandra tigre (*A. tigrinum*) careciente de melanina fue tomada por el Dr. Rufus Humphrey y trató de realizar una fertilización *in vitro* en un *A. mexicanum* sin éxito. Como alternativa, él y su equipo de trabajo decidieron crear embriones portadores de dicho gen albino. Los descendientes de estos híbridos de especies se cruzaron en varias cepas de axolotl y se mantienen hoy en el Ambystoma Genetic Stock Center (AGSC; Universidad de Kentucky).

Es importante destacar, que así como se mantiene un linaje de la cruce realizada por Humphrey en la Universidad de Kentucky, también existen otros linajes de ajolotes albinos, y que hoy día se siguen conservando. Otro ejemplo es la Colonia Axolotl de la Universidad de Indiana (IUAC); estas poblaciones continúan creciendo y manteniendo el linaje de ajolotes albinos, producto de la cruce de *A. mexicanum* y *A. tigrinum* (Figura 5).

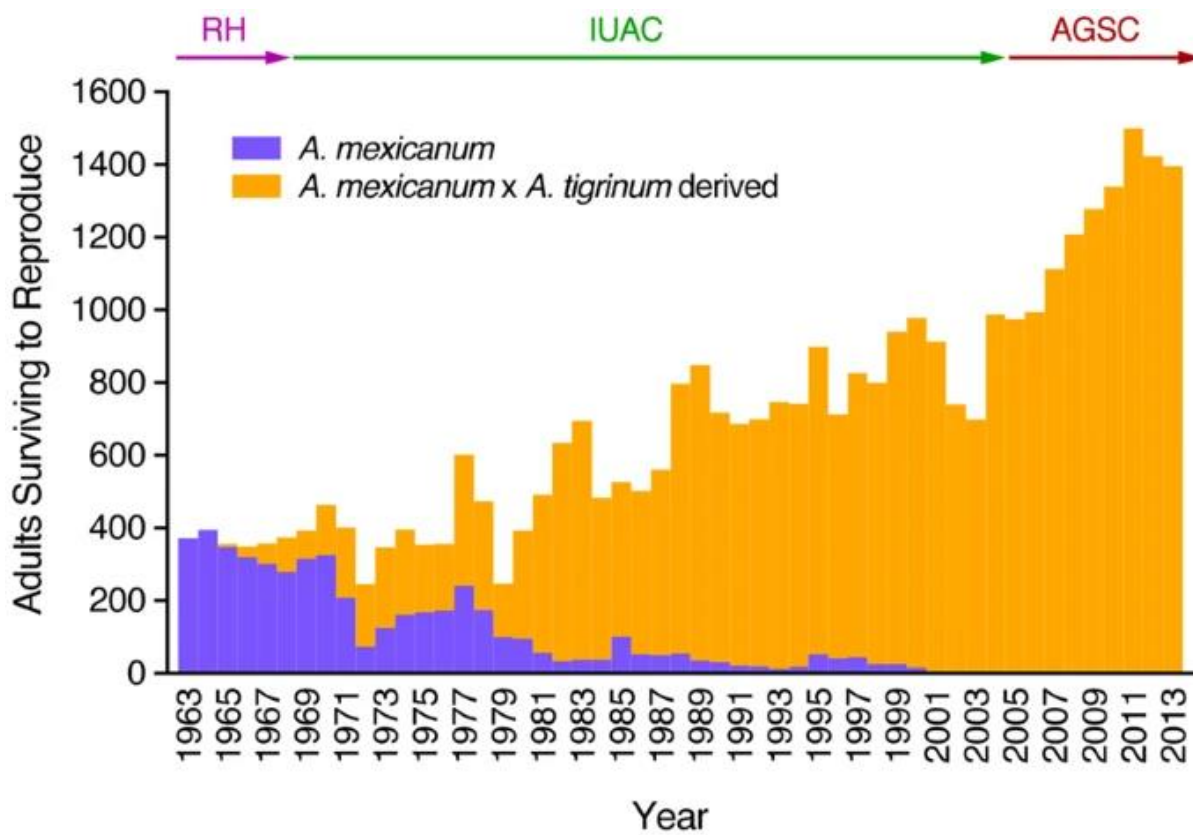


Figura 5. Censo de axolotls adultos híbridos e históricos que sobrevivieron para reproducirse entre 1963 y 2013, con las poblaciones de ajolotes criadas por Rufus Humphrey (RH), la Colonia Axolotl de la Universidad de Indiana (IUAC) y el Ambystoma Genetic Stock Center (AGSC) en la Universidad de Kentucky. (Smith, J., et. al, 2019)

#### 4. Conservación

El *Ambystoma mexicanum* es una especie endémica del sistema lacustre de Xochimilco, en la Ciudad de México. A lo largo de aproximadamente 35 años se han desechado aguas residuales en estos cuerpos de agua, esto junto con enfermedades y la introducción de especies invasoras ha llevado a que el ajolote mexicano sea considerado una especie en peligro de extinción dentro de la NOM-059 - SEMARNAT - 2010 (NOM-059-ECOL,2010).

Aunque no todo parece estar perdido, ya que se han planteado y se continúan ideando estrategias para lograr la preservación de esta especie y el tratamiento de los contaminantes presentes en el sistema lacustre de Xochimilco.

Algunas estrategias a las cuales vendría bien echarles un ojo son la construcción de microhábitats para la conservación de Ajolotes (Azcárraga, 2012), su reproducción en el parque ecológico de Xochimilco (Parrodi, 1999) o el uso de microensayos para evaluar la contaminación presente en estos cuerpos de agua (Pineda-Flores, 1999), lo que se

propone como una buena herramienta para la evaluación ecotoxicológica de las cuencas de Xochimilco.

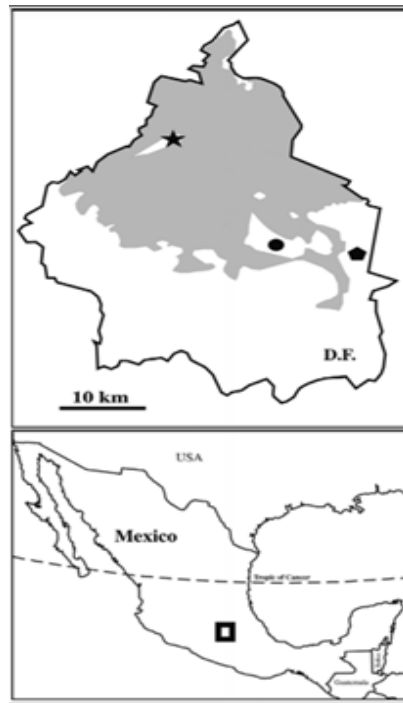


Figura 5. Localización geográfica del hábitat natural de *Ambystoma mexicanum*, (Parra-Olea, 2010).

#### 4.1 Invasión de su hábitat

La introducción de especies exóticas al hábitat del ajolote mexicano ha mermado el número de especímenes, esto se debe a que las especies invasoras depredan los huevos, larvas o jóvenes de ajolote mexicano, como es el caso de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), induciendo así respuestas para reducir sus posibilidades de ser presas (Alcaraz, 2015).

En la investigación realizada por Alcaraz y colaboradores en 2015 se evaluaron las respuestas a estímulos visuales y químicos por parte del *Ambystoma mexicanum* en presencia de *Oreochromis niloticus*, llegando a la conclusión de que la mezcla entre estímulos químicos y visuales relacionados con el depredador llevaban a los ajolotes a buscar refugio y disminuir su actividad, cabe recalcar que antes de la introducción de esta especie, el ajolote mexicano sólo compartía el hábitat con peces que se alimentan de zooplancton.

## 4.2 Criopreservación espermática

Se han presentado herramientas de reproducción asistida para contribuir a la conservación de especies en peligro de extinción, como lo es el *Ambystoma mexicanum*, entre las que se encuentra la reproducción *ex situ* de la especie, ya que su hábitat natural se ve amenazado por las razones antes mencionadas.

A inicios del 2021 Rivera y colaboradores, lograron identificar la viabilidad que tendrían los espermatozoides de esta especie en fresco y después de descongelarse, llegando a la conclusión de que se mantuvieron los parámetros de integridad y viabilidad membranal, proponiendo así un método de criopreservación de esperma que puede ayudar en un futuro a la reproducción asistida de esta especie.

## 4.3 Biorremediación de suelos contaminados

La biorremediación podría definirse como una técnica para eliminar o neutralizar contaminantes del medio ambiente utilizando microorganismos, ya sean nativos o ajenos a este ecosistema. Esta técnica puede realizarse *in situ* (en el lugar a tratar) o *ex situ* (fuera del lugar a tratar), lo que dependerá de las condiciones de la zona contaminada (Flatchman, 1994).

Durante el año 2020 se realizó un proyecto para la biorremediación de los suelos y el rescate de aguas en Xochimilco, con el principal objetivo de reducir la cantidad de hidrocarburos presentes y recuperar las chinampas, este proyecto fue llevado a cabo por parte del Cinvestav y logró restaurar 15 mil toneladas de suelo contaminado con hidrocarburos (Rodríguez, 2020).

Estos resultados dan lugar a un horizonte esperanzador en el rescate del hábitat natural del Ajolote mexicano, lo que puede derivar en la conservación exitosa de esta bella especie bandera.



## Conclusión

Al hacer un repaso por todas las investigaciones realizadas en torno al ajolote, podemos destacar sin duda que es una especie muy relevante para el entendimiento de la regeneración de tejidos y cómo podemos aplicar estos conocimientos en las áreas de biomedicina y biotecnología. Sin embargo, también nos hace reflexionar en cómo la destrucción de su hábitat pronto podría llevar a la extinción definitiva del ajolote, por lo que esta información también invita a la reflexión del lector, sobre el cuidado de especies tan valiosas como lo es el ajolote y el implemento de estrategias para evitar su extinción.

## Agradecimientos

Agradecemos al doctor Enrique González Vergara por darnos los conocimientos y orientación para la elaboración de este trabajo, de igual manera agradecemos a los docentes que nos han preparado con las bases de los temas abordados.

Alcaraz, G., López-Portela, X. & Robles-Mendoza, C. Response of a native endangered axolotl, *Ambystoma mexicanum* (Amphibia), to exotic fish predator. *Hydrobiologia* 753, 73–80 (2015). <https://doi.org/10.1007/s10750-015-2194-4>

Caballero-Pérez, J., Espinal-Centeno, A., Falcon, F., García-Ortega, LF, Curiel-Quesada, E., Cruz-Hernández, A., ... y Cruz-Ramírez, A. (2018). Paisajes transcripcionales de Axolotl (*Ambystoma mexicanum*). *Biología del desarrollo*, 433 (2), 227-239.

Callan, H. G. (1966). Chromosomes and nucleoli of the axolotl, *Ambystoma mexicanum*. *Journal of cell science*, 1(1), 85-108.

ES, O. P. (1999). Conservación del ajolote (*Ambystoma mexicanum*) mediante su cultivo y siembra en el Parque Ecológico de Xochimilco. Patronato del Parque Ecológico de Xochimilco AC. Informe final SNIB-CONABIO proyecto, (L087).

Fei, JF, Lou, WPK, Knapp, D., Murawala, P., Gerber, T., Taniguchi, Y., ... y Tanaka, EM (2018). Aplicación y optimización de la ingeniería del genoma mediada por CRISPR-Cas9 en ajolote (*Ambystoma mexicanum*). *Protocolos de la naturaleza*, 13 (12), 2908-2943.

FLATCHMAN, P.E.; D.E. JERGER & J.H. EXNER, 1994. *Bioremediation*. Field experience. Lewis Publishers.

Juan, R., José, H., Miguel, L., José, O., Juan, P., Fernando, G. (2021). Criopreservación espermática de *Ambystoma mexicanum* (Shaw & Nodder, 1798) *Ambystoma mexicanum* sperm cryopreservation (Shaw & Nodder, 1798). *Abanico veterinario*, ISSN-e 2007-428X, ISSN 2448-6132, Vol. 11, N°. 1, 2021.

Keinath, M. C., Timoshevskiy, V. A., Timoshevskaya, N. Y., Tsonis, P. A., Voss, S. R., & Smith, J. J. (2015). Initial characterization of the large genome of the salamander *Ambystoma mexicanum* using shotgun and laser capture chromosome sequencing. *Scientific reports*, 5(1), 1-13.



- Nowoshilow, S., Schloissnig, S., Fei, J. F., Dahl, A., Pang, A. W., Pippel, M., ... & Myers, E. W. (2018). The axolotl genome and the evolution of key tissue formation regulators. *Nature*, 554(7690), 50-55.
- Otto Parrodi, E. S., 1999. Conservación del ajolote (*Ambystoma mexicanum*) mediante su cultivo y siembra en el Parque Ecológico de Xochimilco. Patronato del Parque Ecológico de Xochimilco AC. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. J087. México D. F.
- Robles Mendoza, C., García Basilio, C. E., & Vanegas Pérez, R. C. (2009). Maintenance media for the axolotl *Ambystoma mexicanum* juveniles (Amphibia: Caudata). *Hidrobiológica*, 19(3), 205-210.
- Straus, N. A. (1971). Comparative DNA renaturation kinetics in amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 68(4), 799-802.
- Smith, J. J., Putta, S., Zhu, W., Pao, G. M., Verma, I. M., Hunter, T., ... & Voss, S. R. (2009). Genic regions of a large salamander genome contain long introns and novel genes. *BMC genomics*, 10(1), 1-11.
- Schoch, R. R., & Fröbisch, N. (2006). Metamorphosis and neoteny: alternative pathways in an extinct amphibian clade. *Evolution*, 60(7), 1467-1475.
- Smith, J. J., Timoshevskaya, N., Timoshevskiy, V. A., Keinath, M. C., Hardy, D., & Voss, S. R. (2019). A chromosome-scale assembly of the axolotl genome. *Genome Research*, 29(2), 317-324.
- Torres-Sánchez, M. (2020). Variation under domestication in animal models: the case of the Mexican axolotl. *BMC genomics*, 21(1), 1-10.
- Vargas-González, A., Prado-Zayago, E., León-Olea, M., Guarner-Lans, V., & Martínez, A. C. (2005). Regeneración miocárdica en *Ambystoma mexicanum* después de lesión quirúrgica. *Archivos de cardiología de México*, 75(S3), 21-29.
- Vázquez, M., & Hunab, A. (2010). El ajolote de Xochimilco. *Ciencias*, 98(098).
- Villalobos-Pacheco, E., Flores-Cortez, D., Pizarro-Collcca, G., Retamozo-Mariano, E., Rivera-Quispe, S., Rondon-Gonzales, J., & Sánchez-Pereda, C. (2020). Efecto de latex de *Croton lechleri* (sangre de grado) en la regeneración de extremidades amputadas de salamandras (*Ambystoma mexicanum*). *Revista Internacional de Salud Materno Fetal*, 5(1), 31-35.
- Weisrock, D. W., Hime, P. M., Nunziata, S. O., Jones, K. S., Murphy, M. O., Hotaling, S., & Kratovil, J. D. (2021). Surmounting the large-genome "problem" for genomic data generation in salamanders. *Population genomics: wildlife*, 115-142.
- Woodcock, M. R., Vaughn-Wolfe, J., Elias, A., Kump, D. K., Kendall, K. D., Timoshevskaya, N., ... & Voss, S. R. (2017). Identification of mutant genes and introgressed tiger salamander DNA in the laboratory axolotl, *Ambystoma mexicanum*. *Scientific reports*, 7(1), 1-10.