



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y
ANIMAL LICENCIATURA EN MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA

INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL

Determinación de compatibilidad sanguínea en
ajolotes de Xochimilco (*Ambystoma mexicanum*)

QUE PRESENTA EL ALUMNO

Jesús Sebastian Arteaga Salinas

Matrícula

2142029018

ASESORES

Dr. Osvaldo López Díaz
Departamento de Producción Agrícola y
Animal
No. Eco. 36655

Dr. Emilio Rendón Franco
Departamento de Producción Agrícola y
Animal
No. Eco. 34270

Ciudad de México, septiembre de 2023

Índice

1. Introducción.....	1
2. Justificación.....	2
3. Marco Teórico.....	2
3.1 Anfibios.....	2
3.2 Tipos de anfibios.....	3
3.3 Ajolote de Xochimilco.....	3
3.4 Función biológica e importancia.....	3
3.5 Características hematológicas.....	3
3.6 Estado de conservación.....	4
3.7 Problemática en su conservación.....	5
3.8 Grupos sanguíneos.....	5
4. Objetivo General.....	5
5. Metodología.....	6
5.1 Localización y sujetos de estudio.....	6
5.2 Obtención de muestras y Pruebas de laboratorio.....	6
6. Metas alcanzadas.....	7
7. Resultados y conclusiones.....	7
8. Recomendaciones.....	8
9. Bibliografía.....	9

1. Introducción

El ajolote de Xochimilco (*Ambystoma mexicanum*) ha sido sujeto de múltiples investigaciones principalmente basadas en su mecanismo regenerativo y diversas áreas como inducción de metamorfosis con hormona tiroidea, criopreservación de semen, fecundación *in vitro* y anestesiología, entre otras; sin embargo, los estudios hematológicos son escasos, algunos están incompletos, y otros fueron realizados con ejemplares enfermos o con especies no emparentadas (Lavalle y Cauti, 2021; Stachura & Traver, 2014).

El conocimiento de los sistemas de tipo de sangre en animales es de suma importancia principalmente para la medicina de transfusión de sangre, estudios filogenéticos y compatibilidades reproductivas; los grupos sanguíneos se determinan principalmente según a los antígenos específicos de especie presentes en la superficie de los eritrocitos (Silvestre & Pastor, 2021; Sreeremya, 2019).

La prevalencia de grupos sanguíneos varía en consecuencia del origen filogenético y tamaño de población, por otra parte, un bajo flujo de genes y el uso de prácticas de mejoramiento no aleatorias, pueden influir en el nivel de consanguinidad (Gavazza, et al, 2021; Vinocur *et al.* 2003). La homocigosidad extrema en poblaciones con bajos niveles de variabilidad genética puede provocar reducciones en la flexibilidad del sistema inmune, por lo tanto, vulnerabilidad a enfermedades y patógenos (Sanjayan & Crooks, 1996).

2. Justificación

Existen estudios hematológicos sobre *Ambystoma mexicanum*, sin embargo, aún no se ha estudiado desde el punto de vista de una compatibilidad sanguínea que nos sugiera la existencia de diferentes grupos sanguíneos entre especímenes de esta especie, lo que le confiere relevancia como herramienta de apoyo en diversos estudios de diversidad genética, poblacional y dentro de las estrategias médicas para la conservación del ajolote de Xochimilco.

3. Marco teórico

3.1 Anfibios

Los anfibios son vertebrados miembros de la clase *Amphibia* con representantes presentes en prácticamente todos los hábitats terrestres y de agua dulce, pero ausente de las regiones más frías y secas, y de las islas oceánicas más remotas (Stuart *et al.*, 2008). Ellos dependen de hábitats terrestres húmedos como barrancos, áreas ribereñas y depresiones húmedas. Algunas especies necesitan agua estancada, mientras que otras solo requieren entornos húmedos ya que no beben agua, sino que la absorben a través de la piel; necesitan esta humedad para su respiración y regulación térmica (Stephen *et al.*, 2019; Caskey, Bracher & Chatwin, 2014).

3.2 Tipos de anfibios

Los anfibios se dividen en tres órdenes: Gymnophiona (Apoda) anfibios terrestres o acuáticos parecidos a gusanos, Anura (Salientia) las ranas y sapos sin cola y de cuatro patas y Urodela (Caudata) las salamandras y los tritones, tienen cola y en su mayoría cuatro patas, siendo Anura y Caudata más estrechamente relacionados entre sí (Stuart *et al.*, 2008; Stephen *et al.*, 2019).

3.3 Ajolote de Xochimilco

El ajolote de Xochimilco (*Ambystoma mexicanum*), pertenece al género de anfibios *Ambystoma*, a la familia *Ambystomatidae* que comprende 32 especies y al orden Caudata (Tobón, Castolo & Vasques, 2021; Aguilar & Aguilar, 2019). 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 (Tobón, Castolo & Vasques, 2021).

Los ajolotes de Xochimilco son salamandras neoténicas, que se distinguen por retener muchos rasgos larvarios a lo largo de su ciclo de vida porque no experimentan una metamorfosis típica de juvenil a adulto, lo que los restringe a un estado acuático (Stachura & Traver, 2014; Molina, 2010). Al conservar sus características larvarias, mantienen la habilidad regenerativa que les permite regenerar diversos órganos en cualquier etapa de su vida (Tobón, Castolo & Vasques, 2021).

Esta especie es endémica y únicamente se distribuye en el centro del país, en el límite suroeste de la Ciudad de México en canales y humedales de Xochimilco. Se cree que esta especie tenía una amplia distribución en el Valle de México, en los lagos de Texcoco y Zumpango (SEMARNAT, 2018; Sámano *et al.*, 2021).

3.4 Función biológica e importancia

Existen varias razones de importancia para la conservación de esta especie, entre las que destacan las médicas, ya que 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; y por otro lado las biológicas, ya que al alimentarse de insectos, regulan la población de estos, fungiendo como controladores de plagas, con beneficios tanto para su ecosistema como para el ser humano. También forman una parte importante para el flujo y dinámica energética en su ecosistema. Por lo antes mencionado se ha aumentado la reproducción de ajolotes aprovechando que es una especie de fácil mantenimiento en laboratorios (Tobón, Castolo & Vasques, 2021; Molina, 2010; West, 2018).

3.5 Características hematológicas

Las células sanguíneas de los anfibios poseen una marcada variabilidad morfológica en comparación con los mamíferos en general. Los eritrocitos de los anfibios son las células más numerosas en sangre, presentan morfología ovalada, son nucleados y

de mayor tamaño que otros animales vertebrados (Olascoaga *et al.*, 2021; Gastelum, 2018; Thrall *et al.*, 2012).

A diferencia de otros animales, el *Ambystoma mexicanum* presenta, en el hígado y bazo la hematopoyesis, en contraste con la médula ósea, timo y riñones, que no presentan capacidad de generar unidades formadoras de colonias (Stachura & Traver, 2014).

En el ajolote de Xochimilco se describen los siguientes valores hematológicos promedio: Hematocrito de 39 %, concentración de hemoglobina de 9.4 g/dL, un conteo de eritrocitos de 0.08×10^{12} /L, volumen globular medio (VGM) de 6036.62 fl, hemoglobina globular media (HGM) de 1647.36 pg/cel y concentración de hemoglobina globular media (CHGM) de 2.63 g/L (Gastelum, 2018).

Los eritrocitos maduros en esta especie miden en promedio 31.87 μm de largo, presentan hemoglobinización completa, membrana citoplasmática marcada y núcleo de redondo a ovoide. En cambio, los eritrocitos inmaduros (policromatófilos) son células redondeadas, ligeramente ovoides que miden en promedio 24.38 μm de largo, presentan hemoglobinización incompleta; la membrana citoplasmática es poco menos notoria que en el eritrocito maduro y su núcleo es redondo. En cuanto a los leucocitos, como en otros vertebrados pueden dividirse por su morfología nuclear, en polimorfonucleares y mononucleares. Dentro de los polimorfonucleares, se encuentran los neutrófilos (media de $0.44 \pm 1.04 \times 10^9$ /L) que son células redondas, que miden en promedio 28.39 μm de largo. De la misma manera, los eosinófilos (media de $0.35 \pm 0.40 \times 10^9$ /L) son células redondas, que miden en promedio 31.97 μm de largo y presentan granulaciones eosinofílicas grandes que ocupan todo el citoplasma. Y los basófilos ($0.02 \pm 0.04 \times 10^9$ /L) que son células redondas que miden en promedio 34.89 μm de largo y presentan granulaciones biofílicas pequeñas que ocupan todo el citoplasma. Por otro lado, dentro de los mononucleares, los melanomacrófagos (media de $0.01 \pm 0.02 \times 10^9$ /L) son células similares a monocitos que presentan granulaciones negruzcas en su citoplasma (melanina) y miden en promedio 32.53 μm de largo. Mientras que los linfocitos (media de $0.22 \pm 0.37 \times 10^9$ /L), son células redondas mononucleares que miden en promedio 27 μm de largo y su núcleo ocupa casi la totalidad del citoplasma, presentan heterocromatina, algunos pueden presentar escasas granulaciones que varían de color en el citoplasma. En cuanto a los monocitos (media de $0.14 \pm 0.27 \times 10^9$ /L), éstos son células mononucleares grandes que van de redondas a ligeramente pleomórficas, miden 33.81 μm de largo en promedio, con citoplasma que va de azul claro a grisáceo y puede presentar vacuolizaciones, su núcleo va de redondeado a arriñonado con eucromatina. Por último, los trombocitos, que son células elípticas con un núcleo oval y centrado, miden en promedio 31.07 μm (Olascoaga *et al.*, 2021; Gastelum, 2018; Martínez *et al.*, 2011).

3.6 Estado de conservación

Actualmente la especie está categorizada en peligro de extinción por la Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2010, en peligro crítico estado por la Unión Internacional para la Conservación de la naturaleza y en el apéndice II de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna (CITES por sus siglas en inglés) y aunque en condiciones de cautiverio no es un problema reproducirlos, en vida libre las poblaciones son tan reducidas que existen

estimaciones que no exceden unas cuantas decenas de individuos (Aguilar & Aguilar, 2019; Castán *et al.*, 2020; Olascoaga *et al.*, 2021).

3.7 Problemática en su conservación

La población de estos animales se ve disminuida por factores como la desecación de su hábitat por crecimiento urbano, la captura clandestina, contaminación con aguas residuales, la invasión de especies exóticas, tales como carpas (*Cyprinus carpio* y *Ctenopharyngodon idella*), tilapias (*Oreochromis spp* y *Tilapia sp*) y lirio acuático (*Eichhornia crassipes*), así como la contaminación por agricultura, ganadería y urbanización, y en general la pérdida y fragmentación del hábitat son sus principales amenazas (Molina, 2010; SEMARNAT, 2018; Bojórquez *et al.*, 2017; Contreras *et al.*, 2014; Carrión *et al.*, 2012).

Una estrategia para su conservación es el mantenimiento de poblaciones en cautiverio que permitan desarrollar adecuadamente un programa de reproducción, investigación y educación, pero estos especímenes usualmente tienen una reducida 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. Así mismo, el manejo clínico de la especie aún enfrenta diversos problemas tales como la falta de información y de herramientas suficientes para poder establecer mejor el diagnóstico de sus problemas de salud (Tobón, Castolo & Vasques, 2021; Olascoaga, 2021).

3.8 Grupos sanguíneos

Los grupos sanguíneos se determinan por componentes antigénicos (glicoproteínas y glicolípidos), polimórficos y genéticamente influenciados de la membrana de los eritrocitos. Los sistemas de grupos sanguíneos en general son independientes entre sí y su herencia se ajusta a la dominancia mendeliana. Para los grupos sanguíneos polimórficos, un animal normalmente hereda 1 alelo de cada padre y, por lo tanto, expresa no más de 2 antígenos de grupo sanguíneo de un sistema. En animales de compañía los productos alelomórficos de un locus genético específico se clasifican como un sistema de grupos sanguíneos (Ahmad *et al.*, 2017; Leguizamón, 2022).

Los marcadores genéticos, como los grupos sanguíneos, los sistemas de proteínas y los polimorfismos de ADN, se utilizan como herramientas para estudiar la diversidad genética. (Vinocur *et al.* 2003). Para poblaciones cuyo estado genético se desconoce, el polimorfismo de proteínas sanguíneas se puede usar para verificar el grado de relación genética (Mwacharo *et al.*, 2005).

Algunos estudios de inmunogenética en anfibios, han encontrado que antígenos similares a los grupos sanguíneos humanos están presentes en ciertas especies de anfibios (Cital & Goodnight, 2016).

4. Objetivo General

Determinar la compatibilidad hemática entre diferentes individuos de *Ambystoma mexicanum*.

5. Metodología

5.1 Localización y Sujetos de estudio

Laboratorio de Histopatología veterinaria de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.

Población de *Ambystoma mexicanum*. Se seleccionaron 20 animales de diferentes grupos dentro del Centro de Investigaciones Biológicas y Acuícolas de Cuernavaca (CIBAC), con pesos mayores a los 90gr.

5.2 Obtención de muestras y pruebas de laboratorio

Para la determinación de los posibles grupos sanguíneos se aplicaron las pruebas cruzadas mayor y menor de compatibilidad. Así mismo se realizó una estandarización de los volúmenes reduciendo las cantidades de eritrocitos y plasma a volúmenes que arrojaron resultados positivos como controles, manteniendo siempre una relación de 2x para suero y 1x para eritrocitos.

Se obtuvo una muestra de sangre de los 20 ejemplares en tubos con gel separador para posteriormente, recolectar y almacenar 100 μ L de suero en tubos de plástico de 200 μ L. Se añadieron las muestras de 6 ejemplares debido a que no se obtuvo suero suficiente de muestra ya tomadas.

Se tomaron 250 μ L de sangre de los 20 ejemplares, depositándola en tubos con EDTA, de los cuales se obtuvieron los eritrocitos. Se realizó a los eritrocitos (GR) un proceso de lavado (3 a 4 veces), colocando en un tubo de ensayo, 100 μ L de los glóbulos rojos y solución salina fisiológica hasta la mitad del tubo de 5 ml, centrifugando a 3500 rpm por 5 minutos entre cada lavado y posteriormente, los GR previamente lavados, se resuspendieron colocándolos en un tubo de ensayo en una dilución del 5 % con solución salina fisiológica.

La prueba cruzada mayor se realizó en tubos de ensayo de vidrio de 5 ml colocando 5 μ L de suero del donante y 2.5 μ L de la dilución de glóbulos rojos (GR) del receptor; la prueba cruzada menor se realizó en tubos de ensayo colocando 5 μ L de suero del receptor y 2.5 μ L de la dilución de GR del donante.

Para las pruebas, se realizaron controles de cada cruzamiento colocando en un tubo de ensayo 5 μ L de plasma de perro y 2.5 μ L de la dilución de GR de cada individuo, 5 μ L de suero de cada ajolote y 2.5 μ L de dilución de GR de perro, 5 μ L de suero de cada individuo con 2.5 μ L de dilución de GR de conejo, humano y cerdo. También se realizaron controles negativos entre 16 de los ejemplares de *Ambystoma mexicanum* utilizando 5 μ L de suero y 2.5 μ L de dilución de GR del mismo animal.

Cada cruzamiento y control se homogenizaron por inversión, posteriormente se centrifugaron durante 1 minuto (3100–3500 rpm) y se efectuó la lectura de resultados observando la presencia de aglutinación utilizando un microscopio óptico y observando al objetivo de 10x.

Según el grado de aglutinación de GR, los resultados se clasificaron en negativo: no se observó ninguna aglutinación (-) ni macroscópica ni microscópicamente y positivo

(1 a 3+), siendo 3+: un solo agregado sólido de células, 2+: muchos agregados grandes y pequeños y 1+: muchas aglutinaciones pequeñas y un fondo de eritrocitos libres. Las reacciones negativas en las pruebas cruzadas mayor y menor indicaron compatibilidad; una reacción positiva en al menos una de las pruebas determinó incompatibilidad (Gómez *et al.*, 2018).

Para el análisis de los datos, se realizó una matriz de 20 x 20 muestras, en la que se hizo el registro de los resultados de cada cruce entre los 20 especímenes y sus respectivos controles para posteriormente realizar un porcentaje por animal.

6. Metas alcanzadas

Se lograron realizar 400 cruces entre ejemplares de *Ambystoma mexicanum*, 55 pruebas menores con eritrocitos de conejo, humano, cerdo y perro, y 20 pruebas mayores con suero de perro. Así mismo, se estandarizó la técnica de las pruebas cruzadas para obtener resultados con volúmenes mínimos de muestra.

7. Resultados y conclusiones

Se complementó el muestreo de los 20 ejemplares con 6 individuos más para concluir con un total de 400 cruzamientos debido a la limitante de muestreo ya que se agotó el suero de animales ya muestreados.

De los cruces realizados entre ejemplares de *Ambystoma mexicanum* se obtuvieron resultados negativos (sin aglutinación), siendo compatibles los 20 ejemplares seleccionados. Por otro lado, los controles realizados con plasma de perro, arrojaron resultados positivos de 3+ (100%) de aglutinación para los 20 individuos del estudio, indicando la presencia de antígenos de superficie que reaccionan con anticuerpos de perro. De la misma manera, utilizando eritrocitos de conejo y sueros de 25 ajolotes, los resultados obtenidos mostraron variabilidad, de 1+ (31.2 %), 2+ (18.7 %) y 3+ (56.2 %) de aglutinación, evidenciando la presencia de anticuerpos en el suero de ajolotes que reaccionan a antígenos presentes en la membrana eritrocitaria del conejo, y utilizando eritrocitos de perro y 13 sueros de ajolote, los resultados fueron todos sin aglutinación (cuadro 1).

El grado de compatibilidad sanguínea observado en las pruebas realizadas entre los ejemplares de este estudio, refleja una posible estrecha relación entre ellos y, por lo tanto, una pobre diversidad genética dentro de la población seleccionada. Por otro lado, el nivel de variación en el control realizado con eritrocitos de conejo y perro, nos muestra la capacidad antigénica individual de los ajolotes limitada ya que incluso utilizando eritrocito de especies poco emparentadas hubo una baja capacidad de aglutinación.

GR\SUERO	37	42	x12	x13	51	77	64	71	48	57	76	62	79	52	32	50	66	46	x21	43	45	x14	78	44	x16	x15	PERRO
81	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
x14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
x16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
78	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
79	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
57	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
71	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
66	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
62	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
77	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
76	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
Conejo	+++	+++			+++	+++			+++		+++		+++			++		+++	+	+	+	+++	+	++	+		
Perro	-	-			-	-			-		-		-			-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Cuadro 1: Se muestran las reacciones obtenidas en los cruzamientos de glóbulos rojos (GR) y suero de los individuos. Los símbolos “+++, ++ y +” indican los grados 3+, 2+ y 1+ de aglutinación (incompatibilidad sanguínea) respectivamente, el símbolo “ - “ indica ausencia de aglutinación (compatibilidad sanguínea). Los recuadros en blanco representan los cruzamientos no realizados.

8. Recomendaciones

Realizar más estudios sobre el tema con ejemplares de *Ambystoma mexicanum* menos relacionados y de diversas poblaciones para generar datos más amplios y sólidos. De igual manera, es recomendable estudiar la variabilidad en la compatibilidad obtenida con los controles usando eritrocitos de otros mamíferos y con más de un individuo por especie.

9. Bibliografía

1. Aguilar, M. R. y Aguilar, A. R. (2019). El mítico monstruo del lago: la conservación del ajolote de Xochimilco. *Revista digital Universitaria*. 20(1).
2. Ahmad, S. A., Ahmad, B. S., Kalyan, A. & Rayees, D. M. (2017). An introduction to blood groups and blood transfusion in domestic animals.
3. Bojórquez, C. L., Arana, M. F., Esquivel, H. A., Latournerié, C. J., Rosiles, M. R. y Soto, C. r. (2017). Contaminación química y biológica en la zona lacustre de Xochimilco. Universidad Autónoma Metropolitana.
4. Carrión, C., Ponce de León, C., Cram, S., Sommer, I., Hernández, M. y Vanegas, C. (2012). Aprovechamiento potencial del lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) en Xochimilco para fitorremediación de metales. *Agrociencia*, 46(6), 609-620.
5. Caskey, M., Bracher, G. & Chatwin, Y. (2014). Guidelines for Amphibians and Reptile Conservation during Urban and Rural Land Development in British Columbia. British Columbia.
6. Castán, A. Y., Arias, B. S., Rojo, S. E., Cervantes, R. E., Ramos, T. I. & Solis, C. O. (2020). The Mexican Axolotl's (*Ambystoma mexicanum*) Early development and survival is affected by comercial grade malathion and dichlorvos organophosphorus pesticides. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 36(4), 967-975.
7. Charlemagne, J. (1979). Thymus independent anti- horse erythrocyte antibody response and suppressor T cells in the Mexican axolotl (*Amphibia, Urodela, Ambystoma mexicanum*). *Inmunology* 36. 643.
8. Cital, S., & Goodnight, A. (2016). Reptile and Amphibian Transfusion Medicine. *Manual of Veterinary Transfusion Medicine and Blood Banking*, 358-365.
9. Contreras, M. T., Gaspar, D. T., Huidobro, L. C. y Mejía, M. H. (2014). Peces invasores en el centro de México. *Especies acuáticas invasoras en México*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México. 413-424
10. De Both, N. J. (1970). Transplantation Immunity in the Axolotl (*Ambystoma mexicanum*) Studied by Blastemal Grafts. *Exp. Zool.* 173: 147-158.
11. Gastelum, M. T. (2008). Determinación de los intervalos de referencia para el hemograma del ajolote de Xochimilco (*Ambystoma mexicanum*) (Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias agropecuarias). Universidad Autónoma Metropolitana. Ciudad de México, México.
12. Gavazza, A., Rossi, G., Antognoni, M. T., Cerquetella, M., Miglio, A. & Mangiaterra, S. (2021). Feline Blood Groups: A Systematic Review of Phylogenetic and Geographical Origin. *Animals*, 11, 3339.
13. Gómez, M. F., Gherardi, S. M., Rondelli, F. M. y Odi, S. L. (2018). Determinación de compatibilidad sanguínea mediante reacción cruzada entre pacientes caninos. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Argentina.

14. Jaime, P. J. y Almaguer, G. C. (2016). Rediscovering the Coombs test. *Medicina Universitaria*. Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León, México. 18(72), 185-186.
15. Lavalle, A. B. y Cauti, M. S. (2021). Valores hematológicos y bioquímicos del axolotl (*Ambystoma mexicanum*) mantenidos en cautiverio en Lima, Perú. *Rev Inv Vet Perú*, 32(6).
16. Leguizamón, A. P. (2022). Caracterización de grupos sanguíneos en población de caninos y felinos de la sabana de Bogotá, por medio de la técnica de inmunocromatografía (Tesis para obtener el título de médico veterinario). Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales.
17. Martínez, S., Lavín, S. y Cuenca, R. (2011). Hematología y citología sanguínea en reptiles. *Clin. Vet. Peq. Anim*, 31 (3): 131-141.
18. Molina, V. A. (2010). El ajolote de Xochimilco. *Universidad Nacional Autónoma de México*, 98, 54-59.
19. Mwacharo, J. M., Otieno, C. J. & Okeyo, A. M. (2005). Suitability of Blood Protein Polymorphisms in Assessing Genetic Diversity in Indigenous Sheep in Kenya. *Applications of Gene-Based Technologies for Improving Animal Production and Health in Developing Countries*. Springer, Dordrecht.
20. Olascoaga, E. A., Servin, Z. E., Nogueira, M. M., Ojeda, C. J., Alcaraz, D. L., Díaz, N. M., López, M. M., Ducoing, W. A., Majluf, T. A. y Maldonado, R. R. (2021). Estimación de parámetros hematológicos en ajolote de Xochimilco (*Ambystoma mexicanum*) bajo cuidado humano en el zoológico de Chapultepec, México. *Revista Mexicana de Herpetología*, 4(1), 95-104.
21. Sámano, C., González, B. R., Castro, A. M., Torres, G. D., Ocampo, C. J. A., Otero, N. J., & Soto, R. E. (2021). Genomics and epigenomics of axolotl regeneration. *The International Journal of Developmental Biology*, 65(7-8-9), 465-474.
22. Sanjayan, M. A. & Crooks, K. R. (1996). Skin grafts and cheetahs. *Nature* 381.
23. SEMARNAT. (2018). Programa de acción para la conservación de las especies: *Ambystoma spp.* SEMARNAT/CONANP. México.
24. Silvestre, F. A. & Pastor, J. (2021). Wild Felids Blood Group System. *Animals*. *Animals*, 11(12), 3533.
25. Sreeremya, S. (2019). Aspects of Blood Group in Domestic Animals. *Journal of Nursing Science Practice*, 1(1), 1-5.
26. Stachura, D. L., & Traver, D. (2014). Hematopoietic Ontogeny in the Axolotl. *Blood Journal*, 24(8):1204-6.
27. Stephen, J., Divers, Scott, J. & Stahl. (2019). *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*. 3th ed. W. B. Saunders.
28. Stuart, S., Hoffmann, M., Chanson, J., Cox, N., Berrinche, R., Ramani, P. & Younf, B. (2008). *Threatened Amphibians of the World*. Lynx Editions. Barcelona, España.
29. Tobar, S. L. (2012). Anfibios y remanentes ribereños: Análisis de la diversidad funcional y de especies en un paisaje tropical de montaña en México (Tesis

para obtener el grado de maestro en ciencias). Instituto de ecología. Veracruz, México.

30. Tobón, A. N., Castolo, A. G. y Vasques, J. D. (2021). *Ambystoma mexicanum*; la importancia de esta especie en la medicina regenerativa y estrategias para su conservación, 7(21), 1-16.
31. Trahl, M. A., Weiser, G., Allison, R. W & Campbell, T. W. (2012). *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. 2nd Ed. Wiley-Blackwell. USA.
32. Vinocur, M. E., Brass, K. E., Batistella, R. M. & Mondino, S. (2003). Genetic variability in the brazilian criollo horse breed. *Ciência Rural*, 33(1),137-142.
33. West, J. (2018). *Importance of Amphibians: A Synthesis of Their Environmental Functions, Benefits to Humans, and Need for Conservation*. Bridgewater State University. Massachusetts, USA.