

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y
ARTES DE CHIAPAS**

INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

T E S I S

Presencia de minerales contaminantes en
anuros de la porción sur de la Selva
Lacandona, Chiapas, México

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA

OSCAR MIGUEL MENDOZA VELÁZQUEZ

DIRECTOR

M. en C. J. Manuel Aranda Coello

Programa de Investigación y Monitoreo de Vida Silvestre
Natura y Ecosistemas Mexicanos A.C.
Instituto de Ciencias Biológicas, UNICACH

ASESOR

Dr. Carlos Gutiérrez Olvera

Laboratorio de Bromatología y Toxicología
Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

13 de noviembre 2020



AGRADECIMIENTOS

Primeramente, quiero agradecerle a Dios y a mis padres por darme la vida. Siempre estaré muy agradecido con mis padres por siempre apoyarme, aconsejarme, tenerme paciencia y por confiar en mí; prácticamente sin el apoyo de ellos no hubiera podido llevar a cabo este trabajo, a mis hermanos Luis Alberto y Daniel.

Quiero hacer un agradecimiento especial al maestro Manuel Aranda, quien ha fungido como mi director de tesis, por su disposición de revisar y realizarme los comentarios para mejorar la tesis, pero también por ser una persona que siempre me ha apoyado y motivado para seguir adelante, además le agradezco por tener la dicha de contar con su amistad. Al Dr. Carlos Gutiérrez Olvera, quien fue mi asesor y desde el momento en el cual le planteamos el tema de la tesis siempre me apoyó, así como también me abrió las puertas del Laboratorio de Bromatología y Toxicología de la UNAM.

Al Laboratorio de Bromatología y Toxicología de la UNAM, quienes a pesar de no pertenecer a la institución me brindaron el apoyo y la asesoría necesaria para poder llevar a cabo los análisis, en especial a la Dra. Meche, al Dr. Juan Orejel, al QFB. Tala y al Dr. Rosiles.

También quiero agradecer a Natura y Ecosistemas Mexicanos A. C., quienes me apoyaron con el transporte, alimentación y hospedaje en el sitio de estudio, en particular a la maestra Julia Carabias y al Biol. Javier de la Maza. Así como a César quien me acompañó y ayudó en todos mis muestreos.

A todas las personas que me apoyaron con los muestreos y las entrevistas en campo, el apoyo de ustedes fue de vital importancia. En particular quiero agradecer a Carlos Alfredo y a sus padres (Doña Mary y Don Manuel), quienes no dudaron en apoyarme con mis muestras. Al buen Nacho Gómez, quien me ayudó a agilizar el proceso que conlleva llegar a la defensa de tesis y por ser un buen compa, así como

también al Dr. José A. De Fuentes, ya que gracias a la disponibilidad de él logre presentar la tesis en este año.

A mis profesores de toda la carrera quienes me brindaron el conocimiento y las herramientas necesarias para mi formación académica. También al comité revisor y sinodales, quienes se tomaron la molestia de revisar la tesis con la finalidad de mejorarla.

¡V´OKOL-LABAL A KOTOLIK!

¡GRACIAS A TODOS!

DEDICATORIA

Este trabajo quiero dedicárselo a todas las personas que me han apoyado y han creído en mí, en especial a mis abuelos maternos que en paz descansen, quienes fueron y serán los pilares de mi vida, así como también a mis abuelos paternos quienes han sido muy importantes para mí.

A mis padres quienes nunca dudaron en apoyarme desde un principio teniendo siempre su apoyo incondicional, la culminación de este trabajo es gracias al esfuerzo de ellos, a mis dos hermanos (Beto y Dani) por siempre estar a mi lado y ser unos excelentes hermanos mayores, así como también a toda mi familia y amigos.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Generalidades de los anfibios	4
2.3. Morfofisiología de la piel	9
2.4. Contaminantes y su impacto en anfibios	12
III. ANTECEDENTES	16
IV. OBJETIVOS	22
V. ZONA DE ESTUDIO	23
VI. MÉTODO	28
6.1. Identificar las especies de anuros que habitan en el sitio de muestreo	28
6.2. Agroquímicos utilizados en la zona de estudio	28
6.3. Minerales presentes en la piel e hígado de anuros que habitan en la Laguna Jabirú	29
VII. RESULTADOS	31
7.1. Especies de anuros	31
7.2. Uso de herbicidas, plaguicidas, fertilizantes de uso agropecuario y desechos de origen domestico por parte de los lugareños de la zona de estudio	32
7.3. Minerales contaminantes en piel e hígado de anuros	35
VIII. DISCUSIÓN	37
8.1. Especies de anuros	37
8.2. Uso de herbicidas, plaguicidas, fertilizantes de uso agropecuario y desechos de origen domestico por parte de los lugareños de la zona de estudio	39
8.3. Minerales contaminantes en piel e hígado de anuros	43
8.4. Concentración de minerales contaminantes en piel e hígado de anuros	45

8.5. Proceso de biomagnificación	48
IX. CONCLUSIÓN	50
X. PROPUESTAS Y RECOMENDACIONES	53
XI. REFERENCIAS DOCUMENTALES	55
XII. ANEXOS	67

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Representación de la histología de la piel en anfibios; tomado de Hickman *et al.* (1998). 10
- Figura 2. Células pigmentarias (cromatóforos). A Pigmento disperso. B Pigmento concentrado. Tomada de Hickman *et al.* (1998). 11
- Figura 3. Laguna Jabirú ubicada en el ejido Quiringüicharo municipio Marqués de Comillas, Chiapas. 23
- Figura 4. Laguna Jabirú, rodeada por vegetación primaria, en donde algunas especies de aves utilizan esta laguna para la obtención de alimentos y dentro de las especies que se pueden avistar está el Jabirú (*Jabiru mycteria*), un ave de particular importancia por su categoría de riesgo. Así como también otros grupos de vertebrados (peces, anfibios, reptiles y mamíferos). 26
- Figura 5. Cultivos de maíz en los alrededores del predio, donde se ubica la Laguna Jabirú. 27
- Figura 6. Se muestra el número y ocupación por ejido de las personas entrevistadas (N=29) en donde Agr (agricultor), Agra (agricultora), Amc (ama de casa), Gan (ganadero), Jor (jornalero), Agyga (agricultor y ganadero) y Est (estudiante). 32
- Figura 7. Número de personas que usan agroquímicos en los ejidos Quiringüicharo y Zamora Pico de Oro, Marqués de Comillas, Chiapas 2019. 33
- Figura 8. Número de personas que usan fertilizantes en los ejidos Quiringüicharo y Zamora Pico de Oro, Marqués de Comillas, Chiapas. 34

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Taxonomía de los anuros encontrados dentro de la Laguna Jabirú (JB); así como también el número de individuos muestreados por cada especie (n). 31

Cuadro 2. Concentración de minerales contaminantes en la piel. Los datos se presentan como concentración promedio \pm desviación estándar y todos los valores presentados están en peso húmedo. Las concentraciones se representan de la siguiente manera: microgramo del mineral/gramo de muestra (μ /g), nanogramo del mineral/gramo de muestra (ng/g) y miligramo del mineral/gramo de muestra (mg/g). 35

Cuadro 3. Concentración de minerales contaminantes en hígado. Los datos se presentan como concentración promedio \pm desviación estándar, todos los valores presentados están en peso húmedo. Las concentraciones se representan de la siguiente manera: microgramo del mineral/gramo de muestra (μ /g), nanogramo del mineral/gramo de muestra (ng/g) y miligramo del mineral/gramo de muestra (mg/g). 36

RESUMEN

En muchas partes del mundo los anfibios están amenazados por uno o más compuestos químicos creados por el ser humano, que se liberan al medio ambiente en forma de herbicidas, pesticidas y fertilizantes, o además en forma de subproductos de procesos industriales. Se sabe que la presencia de sustancias tóxicas en anfibios puede provocar a mediano plazo la acumulación y bioconcentración de los contaminantes en sus depredadores. Aunado a que los efectos de los contaminantes en la vida silvestre han sido estudiados con mayor énfasis en aves y mamíferos, pocos son los estudios realizados en anfibios, a pesar de ser las poblaciones más sensibles a los cambios ambientales; siendo así que tanto en Chiapas como en el país no existan estudios de este tipo con este grupo de organismos, es por ello, que el objetivo principal de este estudio fue analizar la presencia de minerales contaminantes en anuros localizados en la Laguna Jabirú de la Estación Biológica Lacanjá, al sur de la Reserva de la Biósfera Montes Azules (REBIMA) de la Selva Lacandona. Para ello se realizaron muestreos durante mayo de 2018 a mayo de 2019 con la finalidad de conocer la riqueza de especies en el sitio de estudio, así mismo se realizó una búsqueda de anuros muertos para la obtención de piel e hígado para el análisis de minerales contaminantes, y a través de entrevistas semiestructuras a hombres y mujeres (jóvenes y adultos) con los ejidos colindantes al sitio de muestreo, se conoció el uso de agroquímicos en la región. En este estudio se identificaron ocho de las 28 especies de anuros registradas para esta zona de la Selva Lacandona, lo cual representa el 28.57% de la riqueza total. De las 29 personas entrevistadas, el 96.6% (n=28) mencionó utilizar algún tipo de agroquímico en sus ocupaciones laborales y tan solo el 3.4% (n=1) no los utiliza. Siendo así que se identificaron un total de 28 agroquímicos. Por otro lado, se examinaron 10 muestras de piel e hígado provenientes de tres especies de anuros (una de *Incilius valliceps*, dos de *Smilisca baudinii* y siete de *Leptodactylus fragilis*), de las cuales se detectaron cuatro minerales no esenciales, también conocidos como metales pesados: Plomo (Pb), Cadmio (Cd), Mercurio (Hg) y Arsénico (As) y dos minerales esenciales: Zinc (Zn) y Cobre (Cu). La presencia de Pb, Hg, As, Cu y Zn se encuentra co-relacionadas con las actividades antropogénicas de

la región, mientras son menos las que derivan de los procesos naturales; el Cu y Zn son minerales esenciales en los organismos, aunque una alteración en la concentración de estos podría representar un riesgo para los anuros. Por lo tanto, se recomienda realizar un monitoreo constante para evitar que en el futuro se presenten complicaciones en las poblaciones de anuros de la región. Por último, priorizar temas de investigación de esta índole ayudaría a instituciones gubernamentales a generar planes de manejo y conservación para disminuir el riesgo en los ecosistemas tropicales, sobre todo en la majestuosa región de la Selva Lacandona.

Palabras clave: anfibios, conservación, manejo, toxicología.

I.INTRODUCCIÓN

En muchas partes del mundo los anfibios están amenazados por uno o más compuestos químicos creados por el ser humano, que se liberan al medio ambiente en forma de herbicidas, pesticidas y fertilizantes o además en forma de subproductos de procesos industriales (Aguillón-Gutiérrez, 2018). Estas sustancias tienen dos efectos dañinos importantes: primero, pueden causar que los anfibios se desarrollen de un modo anormal, por ejemplo, bocas deformes o en casos extremos, se produce la pérdida o adición de extremidades y segundo, incluso en mínimas concentraciones, pueden tener efectos de afeminamiento en los machos, reduciendo su éxito en la reproducción (Vitt y Caldwell, 2014).

Los efectos de los agroquímicos en la vida silvestre han sido estudiados con mayor énfasis en aves y mamíferos, según Lazo (2017) pocos son los estudios realizados en anfibios a pesar de ser las poblaciones más sensibles a los cambios ambientales y aunque las causas de la declinación de las poblaciones de anfibios es un fenómeno global (aún con causas desconocidas) se considera de vital importancia el rol que juega el uso de agroquímicos como factor influyente en la explicación de este fenómeno (Lazo, 2017). Desde la llamada Revolución Verde, el uso de compuestos químicos (pesticidas y herbicidas) para mejorar la productividad agrícola se ha masificado, de modo que actualmente la mayoría de los sistemas agrícolas depende de su uso (Ferraro, 2005), y aunque la aplicación de agroquímicos es considerada económicamente rentable para la mayoría de los sistemas, los efectos secundarios que tienen sobre el ambiente son frecuentemente negativos (Ferraro, 2005). Siendo así, que las tierras de cultivo reciban altos aportes químicos para controlar plagas, malezas e infecciones fúngicas, las cuales conducen a la exposición a plaguicidas, lo que podría ser otro factor que impulse la disminución observada de los anfibios (Brül *et al.*, 2013).

Los anfibios son el grupo biológico más vulnerables ante la contaminación ya que tienen una piel “desnuda”, lisa y permeable, por la que absorben contaminantes y presentan respiración branquial, pulmonar y cutánea, por lo que, si el agua o el aire están contaminados, los anfibios padecerán las consecuencias (Aguillón-Gutiérrez,

2018). Así mismo, es importante tener en cuenta que la mayoría de agroquímicos son liposolubles, lo que facilita su bioacumulación en los tejidos grasos animales, y luego su biomagnificación en la cadena trófica (Baird, 2001), causando efectos colaterales crónicos a nivel individual, poblacional y comunitario (Lazo, 2017). Por ello, se sabe que la presencia de sustancias tóxicas en anfibios puede provocar a mediano plazo la acumulación y bioconcentración de los contaminantes en sus depredadores (Marco, 2002) y los adultos terrestres, pueden acumular contaminantes ambientales de la exposición en el ambiente terrestre (Hopkins *et al.*, 2007; Bergeron *et al.*, 2010; Todd *et al.*, 2011), lo que pueden influir directamente en el ambiente postnatal de los descendientes en desarrollo, mediante la oviposición en sitios acuáticos contaminados o no contaminados (Todd *et al.*, 2011).

En el municipio de Marqués de Comillas, Chiapas actualmente el cambio y uso de suelo dirigido a cultivo de pastizales para la ganadería y la agricultura de temporal, han provocado la destrucción de los recursos naturales, la degradación de los suelos y la contaminación de los recursos hídricos y de los ecosistemas acuáticos (Montes de Oca *et al.*, 2015). Asimismo, las comunidades localizadas frente a la porción sur de la Reserva de la Biosfera Montes Azules (REBIMA) mantienen un uso de pesticidas para el control de plagas en los cultivos agrícolas y el control de ectoparásitos en el ganado. Y según Álvarez-Porebski *et al.* (2015) menciona que el uso de este tipo de sustancias químicas tiene un impacto desfavorable sobre el ambiente, debido a su toxicidad aguda y/o crónica derivada del proceso de biomagnificación lo que se conoce como un proceso de bioacumulación de una sustancia tóxica (como por ejemplo el plaguicida DDT) la cual puede presentarse en bajas concentraciones en organismos que se encuentran al principio de la cadena trófica y en mayor proporción a medida que se asciende en dicha cadena. Esto significa que las presas tienen menor concentración de sustancias tóxicas que el predador (Croteau *et al.*, 2005).

Es por ello, que realizar estudios de esta índole es de vital importancia, dado que hoy en día no existen trabajos dentro de Chiapas en los cuales se mencione de dónde provienen los contaminantes, su impacto en las poblaciones de anfibios y la interacción de estos con sus depredadores silvestres. Con ello, será posible

comprender cómo algunas actividades que son consideradas importantes dentro de la región (la agricultura y ganadería), suelen ser invasivas y pueden afectar a muchos organismos, de manera directa o indirecta. Además, el poder entender y documentar la calidad del hábitat en esta región de la porción sur de la Selva Lacandona, ayudará a identificar e implementar acciones de conservación disponibles para las poblaciones de anfibios, aunado a priorizar los futuros temas de investigación, descifrando los efectos de pesticidas, nutrientes, pérdida, degradación del hábitat y otros factores de estrés potenciales sobre la viabilidad a largo plazo, el manejo y la salud de las poblaciones de anfibios en un hábitat con presencia de actividades agrícolas y asentamientos humanos.

Por lo tanto, el objetivo de este estudio es analizar la presencia de minerales contaminantes en anuros localizados en la Laguna Jabirú de la Estación Biológica Lacanjá, al sur de la Reserva de la Biósfera Montes Azules (REBIMA) de la Selva Lacandona, lo cual es un comienzo para entender y documentar la calidad del hábitat en una pequeña región de la Selva Lacandona (mismo donde no hay estudios previos).

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Generalidades de los anfibios

Los anfibios son vertebrados ectotérmicos (incapaces de regular su temperatura corporal con el metabolismo) y primariamente cuadrúpedos, con la piel glandular y dependientes del agua para la reproducción. Son uno de los dos grandes grupos de descendientes actuales de los primeros tetrápodos del Devónico, los primeros vertebrados en desarrollar adaptaciones para la respiración, autoaporte, movimiento, captación de sonidos y olores en tierra (Hickman *et al.*, 1998); mientras que los anfibios actuales son animales poiquilotermos (la poiquilotermia y la ectotermia son sinónimos), es decir, que experimentan fluctuaciones de su temperatura corporal y su temperatura corporal varía a medida que lo hace la del ambiente (Anguita, 2004).

En el estado ancestral (ciclo vital de los anfibios), los huevos son acuáticos y cuando eclosionan producen larvas acuáticas que respiran por branquias. A este estado le sigue una metamorfosis en la que las branquias se pierden, y los pulmones que ya estaban presentes durante la vida larvaria, se activan para la respiración (Hickman *et al.*, 1998). Por otra parte, todos los anfibios son capaces de respirar cutáneamente, captando oxígeno a través de su piel húmeda, el cual pasa directamente a los vasos sanguíneos que la recorren (Duellman y Trueb, 1994).

Actualmente los anfibios se clasifican en tres órdenes: Caudata (salamandras y tritones), Gymnophiona (cecilias) y Anura (ranas y sapos) (Halliday y Adler, 2007). Cada orden presenta características específicas en algunos aspectos de su morfología e historia natural (Parra-Olea, Flores-Villela y Mendoza-Almeralla, 2014). Por lo cual, en el mundo se conocen alrededor de 8 193 (Frost, 2020) y 8 205 (AmphibiaWeb, 2020) especies de anfibios, de los cuales 7 238 son ranas y sapos, 753 son salamandras y tritones, y 214 son cecilias (AmphibiaWeb, 2020), siendo el grupo de los anuros el más abundante y diversificado de los anfibios vivientes (Parra-Olea, Flores-Villela y Mendoza-Almeralla, 2014).

Las especies del orden de los anuros se le encuentran en hábitats acuáticos, terrestres, fosoriales, arborícolas y en prácticamente todos los continentes,

exceptuando la Antártida (Heyer *et al.*, 2001; Halliday y Adler, 2007). En cuanto a la etimología de la palabra Anura significa “sin cola” (Del griego antiguo ἀ(ν-) a(n-) (negación) y οὐρά 'cola'), siendo una característica de este grupo en la fase adulta (Frost, 2020). Las larvas son fitófagas y los adultos son carnívoros. La longitud hocico-cloaca en adultos va de menos de 1 a 35 cm según la especie (Frost, 2020). Las extremidades posteriores son largas, el tronco corto y no exhiben cola, con excepción de los machos de la especie *Ascaphus truei* (Heyer *et al.*, 2001; Halliday y Adler, 2007; Vitt y Caldwell, 2009). Los huesos calcáneo y astrágalo se han alargado añadiendo un segmento más a las extremidades posteriores. En la región sacra las vértebras caudales se han fusionado formando el urostilo, y junto con el ilion conforman una estructura muy resistente al momento del salto (Halliday y Adler, 2007; Parra-Olea, Flores-Villela y Mendoza-Almeralla, 2014).

Los anuros pueden presentar diferencias morfológicas dependiendo de su forma de vida. En México, por ejemplo, los anuros semiacuáticos del género *Lithobates* tienen la cabeza puntiaguda, cuerpo hidrodinámico y extremidades posteriores muy largas con dígitos largos y palmeados; mientras que las especies arborícolas como las del género *Agalychnis*, exhiben cuerpos planos y extremidades posteriores más largas con puntas de los dígitos extendidas; o bien, los anuros de los géneros *Rhinophrynus* quienes se distribuyen en climas estacionales para el estado de Chiapas, así como *Scaphiopus* y *Spea* quienes se distribuyen al norte de México en climas áridos, en donde ambos géneros son cavadores pequeños, presentan hocicos curvos, cabezas anchas, cuerpos globulares, extremidades cortas y robustas con dígitos no palmeados (AmphibiaWeb, 2012; Halliday y Adler, 2007; Parra-Olea, Flores-Villela y Mendoza-Almeralla, 2014).

En cuanto a la reproducción, la mayoría presenta fertilización externa, colocando los huevecillos en el agua, aunque algunos los colocan en tierra (Frost, 2020). Los machos no han elaborado ningún tipo de danza nupcial, pero conquistan a las hembras con su canto. Éstas acuden en pos del reclamo nupcial y los machos saltan sobre su espalda y se aferran de manera pertinaz. Después, cuando la hembra

comienza la puesta, el macho rocía los huevos con su esperma. En algunos casos los huevos son transportados o retenidos, tras ser fecundados (Anguita, 2004).

Los anuros son un grupo antiguo conocido desde el jurásico hace 150 millones de años (Hickman *et al.*, 1998). Según Duellman y Trueb (1994); Halliday y Adler (2007) y Vitt y Caldwell (2009), los anfibios modernos o también conocidos como lisanfibios (Lissamphibia), son un grupo de vertebrados que se distinguen como grupo monofilético por presentar características comunes en su morfología externa como: piel lisa muy vascularizada que facilita el intercambio de gases que incluye glándulas mucosas, lechosas que humectan la piel y secretan toxinas que funcionan como mecanismo de defensa y huevos sin membranas extraembrionarias, los cuales dependen de ambientes húmedos para evitar la desecación (Parra-Olea, Flores-Villela y Mendoza-Almeralla, 2014); asimismo, la falta de uñas verdaderas y un admirable músculo retractor les permite usar los ojos para ayudarlos a tragar (Young, 2004).

Por lo cual, la fisiología y la morfología únicas de la piel de anfibios desempeñan un papel importante en el paso de contaminantes a través de las células dérmicas, ya que la piel es muy delgada (10~20 μm) y es el principal órgano involucrado en el intercambio de gas y agua (Van Meter *et al.*, 2014).

2.2. Biodiversidad de anfibios en México

En un marco mundial, el porcentaje de familias de cada orden presentes en México es de un 10% en cecílicos (el grupo menos diverso), 20.37% en anuros y 40% en salamandras; conformando un total del 5.23% de las especies a nivel mundial, posicionando a México como el quinto país más diverso a nivel mundial después de Brasil, Colombia, Ecuador y Perú (Parra-Olea, Flores-Villela y Mendoza-Almeralla, 2014).

Así, los anfibios contribuyen considerablemente a que México sea considerado un país megadiverso (Flores-Villela, 1993) con una diversidad total de 376 especies y un alto nivel de endemismo (252 especies), lo que equivale al 67% de la riqueza total mundial. En general, el nivel de endemismo es muy alto, ya que siete de las 17 familias presentes en México contienen más de un 50% de especies endémicas para el país,

incluyendo seis géneros (tres de anuros y cuatro de salamandras) que también son endémicos de México (Parra-Olea, Flores-Villela y Mendoza-Almeralla, 2014).

México cuenta con un total de 16 familias con representantes de los tres órdenes. Por ejemplo, la familia Plethodontidae con 117 especies (siendo la familia más diversa) y seguida por la familia Hylidae con 96 (Parra-Olea, Flores-Villela y Mendoza-Almeralla, 2014). En cuanto a la distribución por estado se denota una marcada diferencia entre Oaxaca, Chiapas y Veracruz con el resto de México. En donde el estado de Oaxaca cuenta con una diversidad total de 140 especies, posicionándolo en primer lugar, mientras que Chiapas cuenta con una diversidad de 100 especies y Veracruz con 96 especies, ocupando el segundo y tercer lugar respectivamente, a nivel nacional. Este mismo orden se presenta cuando se consideran sólo los anuros, siendo el estado de Oaxaca el primer lugar con 97 especies, seguido de Chiapas con 76 y Veracruz con 62 (Parra-Olea, Flores-Villela y Mendoza-Almeralla, 2014).

Del total de especies de anfibios descritas hasta hoy en día para México, 194 se encuentran dentro de alguna categoría según la NOM-059-SEMARNAT-2010. A pesar de que la cifra de especies que se encuentran protegidas a través de las Áreas Naturales Protegidas (ANP's) es grande, la tercera parte del total de anfibios y reptiles de Chiapas (81 especies; 32 anfibios y 49 reptiles), no se ha reportado en ninguna área natural protegida del estado. Estas especies requieren atención inmediata, ya que el riesgo de perderse podría ser alto (Reynoso, Paredes-León y González-Hernández, 2011).

Chiapas es uno de los estados líderes en cuanto a número de áreas naturales protegidas decretadas en el territorio, contando con 10 áreas naturales protegidas federales siendo estas: Lacandona, El Triunfo, El Ocote, La Encrucijada, Cañón del Sumidero, La Sepultura, Yaxchilán, Na-ha, Lagunas de Montebello y Metzabok; las cuales cuentan con sus respectivos listados herpetofaunísticos publicados y resguardan un total de 243 especies (Reynoso, Paredes-León y González-Hernández, 2011). Dentro de estas áreas naturales protegidas, la selva Lacandona constituye una de las regiones tropicales más ricas en especies de anfibios y reptiles en nuestro país,

se tienen registradas 119 especies para la Reserva de la Biosfera Montes Azules (REBIMA), de las cuales 35 son anfibios y 84 reptiles (Ramírez, León-Pérez y Noriega, 2015).

Dentro de los estudios taxonómicos para la selva Lacandona destaca el realizado por Lazcano-Barrero (1992) donde se reportó el primer registro de *Bolitoglossa mulleri* (Salamandra Lengua de Hongo) para Chiapas y para México en Boca de Chajul, Marqués de Comillas. Asociado a esto se agregaron al listado de la región las especies *Oedipinae longata* (Orden: Caudata) y *Scinax staufferi* (Orden: Anura) y el primer registro de la especie *Tripion petasatus* (Rana Cabeza de Pala) para esta región y para el estado de Chiapas (Reynoso, Paredes-León y González-Hernández, 2011).

Por otra parte, Hernández-Ordóñez *et al.* (2014) realizaron una lista actualizada de la diversidad de anfibios y reptiles en la región Lacandona, así como también reportaron información sobre su distribución y estado de conservación; para ello realizaron una revisión de bases de datos de colecciones científicas y listados herpetológicos publicados de la región sureste de la Selva Lacandona. Referente a ello se registraron 124 especies (89 reptiles y 35 anfibios) para la región; nueve anfibios (25.7%) y dos reptiles (2.2%) endémicos del bosque maya (desde Lacandona, en México, hasta las montañas mayas en Belice). Mientras que cuatro anfibios y tres reptiles parecían estar restringidos a la REBIMA. De la herpetofauna evaluada, la lista de especies amenazadas del gobierno mexicano (NOM 059-2010) indica que siete especies (20%) están bajo una categoría de riesgo, mientras que la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) indica que solo siete especies (10.1%) están en riesgo. Lo que indica que Selva Lacandona es de gran importancia para la conservación de la herpetofauna mesoamericana. Sin embargo, el aumento de los niveles de deforestación agrega más incertidumbres al mantenimiento de anfibios y reptiles entre otros vertebrados en la región.

Por otra parte, Natura y Ecosistemas Mexicanos A.C., ha realizado monitoreos de la herpetofauna en la subcuenca del Lacantún en los últimos tres años, registrando un total de 34 especies de anfibios (28 del orden Anura y seis del orden Caudata;

Ramírez, León-Pérez y Noriega, 2015). Así mismo, en la región sureste de la Selva Lacandona Hernández-Ordóñez *et al.*, (2015) realizaron una revisión de colecciones científicas y listados herpetológicos publicados, para generar un lista actualizada de las especies de anfibios y reptiles de esta región, reportando la presencia de 35 anfibios y 90 reptiles, así como la extensión del área de distribución de ocho anfibios y 32 reptiles para la parte sureste de la Selva Lacandona, confirmando la presencia de *Dermophis mexicanus*, *Eleutherodactylus leprus*, *Pantherophis flavirufus* y *Bothriechis schlegelii* en la región. Dentro de los anfibios, los anuros tenían el mayor número de especies (29 especies), seguidos de las salamandras (cuatro especies) y las cecilias (dos especies).

En la actualidad los anfibios están sufriendo la peor crisis de extinción de toda su historia; se considera que, de las 376 especies descritas para México, 164 están amenazadas o críticamente amenazadas, lo cual equivale al 43% de la diversidad total; 42 especies son vulnerables y del 14% de las especies no se tiene suficiente información para asignarlas una categoría (Parra-Olea, Flores-Villela y Mendoza-Almeralla, 2014).

2.3. Morfofisiología de la piel

Algo que no ha cambiado a lo largo de la evolución de los anfibios es la dependencia de estos animales por el medio acuático. Algunas especies se han intentado liberar de esta traba y han desarrollado en su epidermis una eficaz capa córnea que les protege de la desecación, permitiéndoles llevar una vida adulta alejada del agua, y a pesar de eso tienen que acudir al medio acuático para reproducirse y desarrollarse durante las fases embrionaria y larvaria (Anguita, 2004).

La piel de los anfibios es fina y húmeda, y se encuentra laxamente sujeta al cuerpo tan sólo en unos determinados puntos. Histológicamente, la piel está formada por dos capas: una epidermis externa estratificada y una dermis interna esponjosa (Fig. 1). La capa externa de células epidérmicas (que es renovada periódicamente, cuando un sapo o rana mudan) contiene depósitos de queratina, una proteína fibrosa y resistente que es, en cierta medida, una protección contra el desgaste y la pérdida del agua de la piel (Hickman *et al.*, 1998).

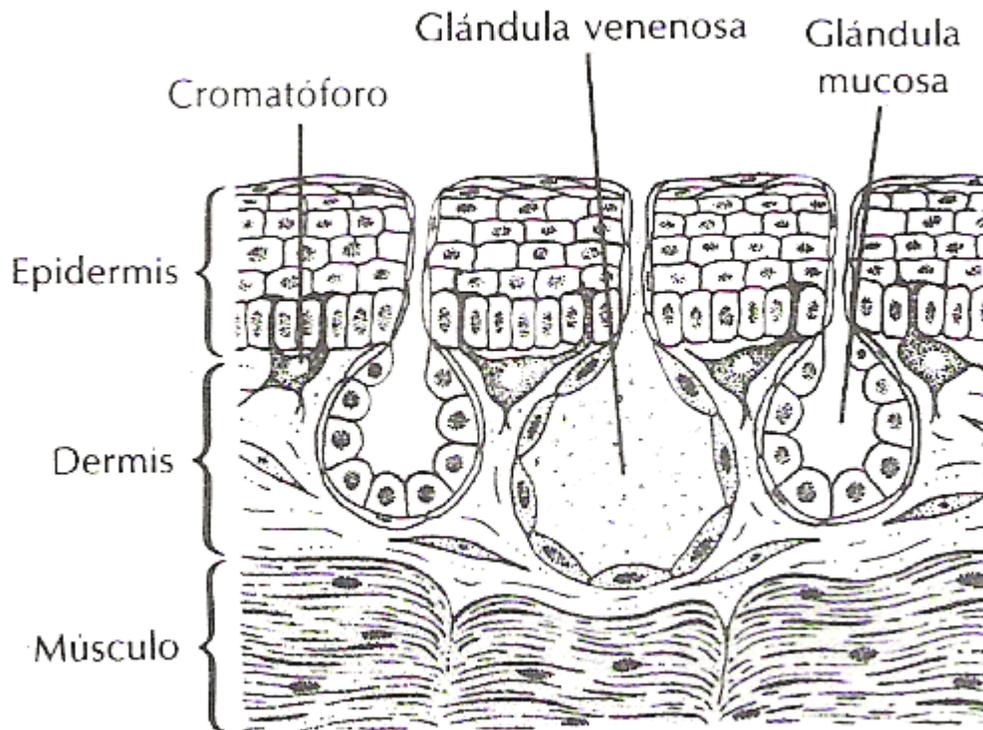


Figura 1. Representación de la histología de la piel en anfibios; tomado de Hickman *et al.* (1998).

La capa interna de la epidermis da origen a dos tipos de glándulas tegumentarias que crecen dentro de los tejidos dérmicos subyacentes en donde pequeñas glándulas mucosas segregan un moco protector impermeable sobre la superficie de la piel, y las grandes glándulas serosas producen veneno acuoso y blanquecino que es altamente irritante para los potenciales depredadores (Hickman *et al.*, 1998). La matriz fundamental de la dermis está compuesta por glucosaminoglucanos en unión covalente con proteínas con radicales sulfatos y/o carboxilos conteniendo además fibras colágenas y elásticas (García *et al.*, 2011).

El color de la piel en los anfibios es producido por células pigmentarias específicas; los cromatóforos, localizadas principalmente en la dermis. Los cromatóforos de los anfibios, como los de muchos peces y reptiles, son células ramificadas que contienen pigmento, el cual se puede concentrar en una pequeña área o quedar disperso en todas las prolongaciones ramificadas para controlar la coloración

de la piel (Fig. 2). En los anfibios aparecen tres tipos de cromatóforos; los más superficiales son los xantóforos, que presentan pigmentos rojos, anaranjados o amarillos; debajo se sitúan los iridióforos, con un pigmento plateado y cristalino, y los más profundos son los melanóforos, que contienen la melanina negra o parda (Hickman *et al.*, 1998).

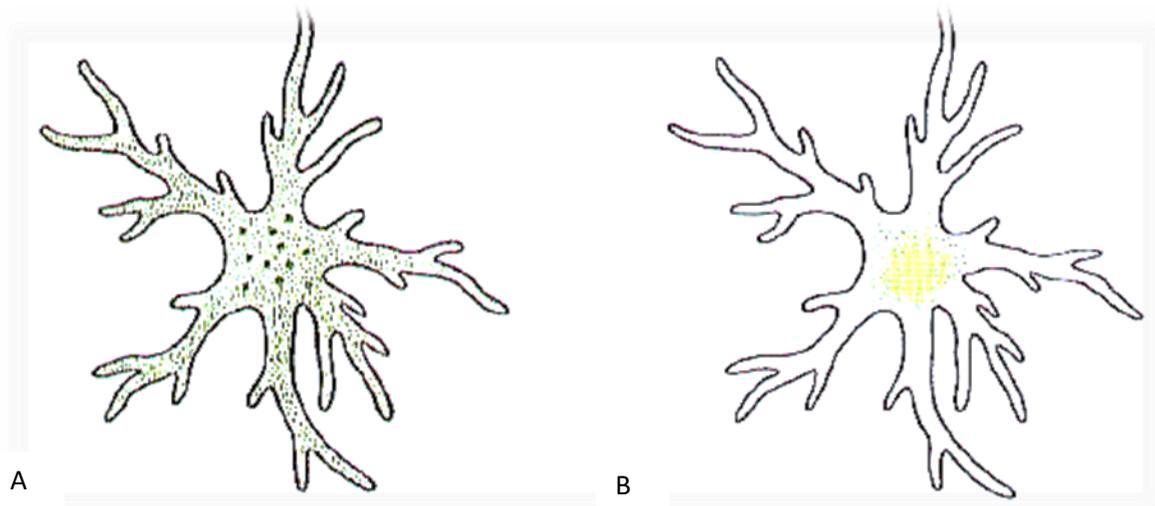


Figura 2. Células pigmentarias (cromatóforos). A Pigmento disperso. B Pigmento concentrado. Tomada de Hickman *et al.* (1998).

El tegumento de anfibios adultos tiene novedades tisulares y fisiológicas primordiales relacionadas con el modo de vida terrestre. Es una piel que protege contra la desecación mediante la formación de una capa córnea y glándulas tegumentarias ectodérmicas mucosas que mantienen la superficie del tegumento húmeda. En algunos casos, la piel tiene además funciones de defensa y ataque mediadas por toxinas cutáneas originadas en glándulas serosas (Barthalmus, 1994).

La piel de los anfibios es muy delgada (10~20 μm ; Van Meter *et al.*, 2014) y está cubierta de poros, en los cuales el oxígeno entra en el cuerpo del anfibio (los anfibios que no tienen pulmones respiran mediante estos poros; Kalman, 2007), es el órgano principal involucrado en el intercambio de agua (Van Meter *et al.*, 2014) y electrolitos con el ambiente (Brül *et al.*, 2013). Por lo cual, la presencia de contaminantes en poblaciones de anfibios causa un efecto negativo, debido a su piel altamente

permeable (Brül *et al.*, 2013). De hecho, los procesos de absorción dérmica de productos químicos han demostrado ser dos órdenes de magnitud más rápidos que en los mamíferos, por ejemplo, el paso percutáneo (a través de la piel) de la Atrazina es mayor en la piel de *Rana esculenta* que en la piel de la oreja del cerdo (Quaranta *et al.*, 2009). Por lo tanto, la fisiología y la morfología única de la piel desempeña un papel importante en el paso de contaminantes a través de las células dérmicas (Van Meter *et al.*, 2014).

2.4. Contaminantes y su impacto en anfibios

El crecimiento de la actividad industrial y agropecuaria implica la utilización de un número cada vez mayor de sustancias químicas las cuales penetran en los ecosistemas con potenciales tóxicos variables generalmente desconocidos y afectan a todos los organismos expuestos incluyendo al ser humano (Waalkes, Coogan y Barter, 1992; Pérez, 1994). El bienestar de los anfibios está estrechamente relacionado con el medio ambiente en el que habitan, el alimento que consumen y una alteración en cualquier factor ambiental (*e.g.* temperatura, humedad, sanidad, etc.) o nutricional producen anormalidad en su función metabólica desencadenando algún problema patológico (Barragán y Karol, 2002).

Durante más de 20 años, los científicos han documentado evidencia que respalda una disminución global de las poblaciones de anfibios (Sparling *et al.*, 2014), así como también que alrededor de un 20% de las especies de anfibios de todo el mundo se encuentra amenazada (Anguita, 2004). Los expertos coinciden al asegurar que esta situación se debe a un entramado de causas, tales como la pérdida de su hábitat, el aumento de la radiación ultravioleta, la aparición de predadores (especies alóctonas), parásitos y patógenos, estos últimos quizá no nuevos, pero sí con renovado vigor; así como también la contaminación del medio acuático, siendo la pieza más recientemente investigada dentro del rompecabezas que supone un fenómeno de este tipo (Anguita, 2004). Los resultados obtenidos a través de estudios de laboratorio o mesocosmos y la medición de concentraciones de contaminantes en áreas que experimentan disminuciones han respaldado el papel de los contaminantes en estas disminuciones (Sparling *et al.*, 2014).

Por ejemplo, un estudio ha demostrado que la contaminación de aguas provocada por el uso de fertilizantes basados en nitrógeno, está detrás de la alta mortandad de diversas especies de anfibios estadounidenses (Anguita, 2004). Estos contaminantes tienen el potencial de causar efectos letales en anfibios como: supervivencia reducida o efectos subletales (inmunosupresión, malformaciones, reproducción comprometida, reducción del crecimiento y desarrollo; Smalling *et al.*, 2015). Aunado a ello, muchas sustancias químicas relacionadas con la agricultura y la industria contaminan hábitats acuáticos, causando severos daños a los ecosistemas; un caso generalizado de contaminación es la adición artificial de nitrógeno en la naturaleza (fenómeno que ya se considera un nuevo cambio ambiental global de consecuencias imprevisibles) siendo sus fuentes principales los fertilizantes químicos, residuos agrícolas, ganaderos y aguas residuales (Marco, 2002).

En muchos casos, se produce la acumulación de sustancias químicas en diversos órganos o tejidos y se producen alteraciones funcionales o fisiológicas que pueden provocar daños en los individuos, y muchos anfibios son componentes cuantitativamente importantes en ecosistemas de agua dulce, y por tanto, la presencia de sustancias tóxicas puede provocar a mediano plazo la acumulación y bioconcentración de los contaminantes en sus depredadores (Marco, 2002). Los biocidas clorados son los más persistentes, los organofosforados y carbamatos son de duración media, que oscila entre días a meses; en contraste los piretroides y algunos agentes de control biológico como las feromonas e inhibidores de quitina, son de menor persistencia (Lajmanovich *et al.*, 2005). Es por eso, que los componentes de mayor importancia para detectar son los compuestos clorados, los cuales tienen un potencial de bioacumulación elevada, ya que afectan la sobrevivencia de las especies y poseen un peligro potencial para la salud humana (OMS, 1982).

El descubrimiento de insecticidas organoclorados como el DDT, que son altamente persistentes, bioacumulables y que pueden afectar a poblaciones completas de animales silvestres, han generado la prohibición, así como las restricciones en su utilización en algunos países como en USA (Ronald *et al.*, 1990; Lajmanovich *et al.*, 2005). Aunque solo unos pocos estudios evaluaron los efectos de los contaminantes

en el sistema inmunitario y en la resistencia de los anfibios contra los patógenos, otros estudios como los realizados por Luebke, Ahokas y Wright (1997); O'Halloran *et al.* (1996); Zelikoff *et al.* (1996) y Christin *et al.* (2005), demuestran que muchos productos químicos, incluidos los plaguicidas, pueden alterar su sistema inmune, ya sea morfológicamente o funcionalmente; por lo cual, una inmunomodulación causada por la acción de contaminantes podría reducir posteriormente la capacidad de estos animales para defenderse contra la invasión de patógenos como son los parásitos y hongos (Christin *et al.*, 2005).

Es por esto, que los pesticidas pueden hacer crecer la susceptibilidad a organismos patógenos por la depresión del sistema inmune en los anfibios, ya que la mayoría de los anfibios que viven en la naturaleza están infectadas con diversos parásitos y patógenos que normalmente no son letales, aunque si los contaminantes aumentan la inmunosupresión en los anfibios infectados, puede resultar en que los animales sean más vulnerables a una variedad de infecciones según lo reportado por Christin *et al.*, (2005). Estos datos ayudan a comprender la inmunotoxicidad de diferentes contaminantes en anfibios, pero no representan exposiciones realistas en el medio ambiente (Christin *et al.*, 2005), ya que estos estudios utilizaron métodos indirectos, incluyendo concentraciones de residuos de campo, efectos de biomarcadores, exposiciones en laboratorio y esfuerzos de modelado, pero la evidencia directa (en el campo) es más difícil de obtener (Sparlling *et al.*, 2015).

Asociado a ello la exposición a contaminantes ambientales en las etapas de la vida terrestre puede afectar directamente el estado físico individual, al reducir la supervivencia o el éxito reproductivo de los adultos, o indirectamente, por los efectos transgeneracionales en la descendencia (Todd *et al.*, 2011). Asimismo, la acumulación de metales en anfibios adultos puede llevar a la transferencia materna de contaminantes a los huevos e influir directamente en el éxito reproductivo (Hopkins *et al.*, 2006; Bergeron *et al.*, 2010; Todd *et al.*, 2011). Como mecanismos de acción los metales pesados establecen fuertes "bindings" (uniones) con las bases y fosfatos de los ácidos nucleicos y con los grupos -SH de las proteínas estructurales y enzimáticas, alterando tanto la estructura como la función de los mismos, compitiendo con otros

cationes divalentes con roles fisiológicos como el Ca, desplazándolos y alterando el metabolismo en forma integral, desacoplan la fosforilación oxidativa de la respiración celular y reduciendo la disponibilidad de moléculas energéticas (Pérez, 1994).

Algunos metales pesados como el cadmio (Cd) y el plomo (Pb) están presentes en los organismos como consecuencia exclusivamente de la contaminación ambiental, son tóxicos para todos los sistemas estudiados y no tienen funciones biológicas establecidas; en cambio, otros como el zinc (Zn), tienen numerosos roles metabólicos dentro de los rangos de concentraciones fisiológicas, pero resultan muy tóxicos si son superadas las concentraciones regulables por los sistemas biológicos (Pérez, 1994). La contribución del Cd a la contaminación ambiental es consecuencia del amplio espectro de usos que tiene en la actualidad (baterías, pinturas, centrales nucleares, entre otros; Pérez, 1994). Los órganos "blanco" del Cd son el hígado y riñón, sitios en los que también se acumula (Pérez, 1994). El Pb ingresa a los organismos principalmente por vía respiratoria, es absorbido por la sangre y a partir del hígado (uno de sus órganos "blanco") es distribuido al resto de los órganos expresando la toxicidad en distintas localizaciones y es así que el Pb interfiere en la síntesis de hemoglobina produciendo anemia, causa desórdenes en el sistema nervioso central y el sistema nervioso periférico alterando masivamente sus funciones, desordena la función renal y reproductora afectando principalmente la formación de gametos masculinos y disminuyendo la fertilidad (Goyer, 1981; Pérez, 1994).

III. ANTECEDENTES

Entre los trabajos que destacan sobre la problemática de la contaminación y su impacto en las poblaciones de anfibios, se encuentra el estudio realizado por Pérez (1994) en Buenos Aires, Argentina; en el cual se estudia la toxicidad del Cd, Pb y Zn en embriones y larvas tempranas del *Bufo arenarum*, en donde los metales pesados produjeron efectos letales y subletales en relación directa a la concentración y tiempo de exposición. Los embriones expuestos a los metales pesados a partir del estadio de dos blastómeros en adelante fueron afectados significativamente ($p < 0.05$) a partir de las siguientes concentraciones: 0.06 mg Cd⁺⁺/L, 0.25 mg Pb⁺⁺/L y 4 mg Zn⁺⁺/L. Las CL 50 (concentración letal media) 96 h fueron: 0.13 mg Cd⁺⁺/L, 0.42 mg Pb⁺⁺/L y 16.85 mg Zn⁺⁺/L, por lo que puede decirse que la toxicidad del Pb fue tres veces menor que la del Cd y Zn, 130 veces menor que la del Cd y 40 veces menor que la del Pb. Con respecto a los efectos subletales se expresaron principalmente en retraso en el desarrollo; reducción en la talla; malformaciones del tipo de microcefalia; hidropesía; incurvaciones axiales; pliegues en el ectodermo general y neural; fallas durante la gastrulación y desarrollo parcial de branquias y aletas; alteración en la distribución de las células ectodérmicas y pigmento; disociación celular, y alteraciones en el comportamiento.

Por otro lado, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA por sus siglas en inglés; 1996) realizó un informe con el propósito de consolidar los datos de toxicidad de los anfibios en formas útiles para que otros puedan derivar o respaldar los criterios de calidad del agua en el ambiente y los datos de anfibios en las tablas se extrajeron de 163 referencias. 58 especies de anfibios se asociaron con más de 135 sustancias químicas, subgrupos químicos, compuestos y formulaciones. La estructura de las tablas en ese informe sigue el formato de los documentos de criterios de calidad del agua existentes, en donde se dan tablas separadas para datos agudos, datos crónicos, datos de residuos y "otros" datos, mencionando que se le debería prestar un mayor interés en que los datos de anfibios deben incluirse en la derivación de los criterios de calidad del agua. Además, los criterios de calidad del agua que

protegen a los peces también pueden proteger a los anfibios, sobre todo porque existe una pequeña cantidad de datos de anfibios presentes en los documentos de criterios de calidad del agua, las cuales se basa exclusivamente en etapas acuáticas; no existiendo criterios específicos para las etapas de la vida terrestre.

Además, en un estudio realizado por Lajmanovich *et al.* (2005) se analizan las concentraciones de pesticidas organoclorados en la grasa de anfibios, serpientes, aves y mamíferos del Litoral Fluvial de Argentina. Del cual una de las tantas cosas interesantes de este estudio, es el método usado para la colecta de organismos, las muestras de tejidos examinadas provienen, en su mayoría, de animales que se encontraron atropellados en rutas y caminos que recorren localidades con intensa explotación agropecuaria. La metodología empleada se utilizó para no sacrificar especímenes que habitan en sitios altamente impactados por los sistemas agrícolas y con ello, se registró la presencia de residuos de compuestos organoclorados en anfibios, serpientes, aves y mamíferos que habitan en áreas con intensa explotación agraria en donde los resultados demuestran la presencia de un variado espectro de residuos clorados en especies no directamente relacionadas, ni provenientes del mismo sitio, situación que permite suponer que el fenómeno puede alcanzar a gran parte de la comunidad.

Algo importante que menciona Lajmanovich *et al.* (2005) dentro de este estudio, es que cuando los organismos no “blancos” se ponen en contacto con plaguicidas, pueden sufrir un envenenamiento agudo que les produce la muerte, siendo la dieta una de las vías más probable de entrada de estos los plaguicidas clorado, y especialmente a través de las partes más grasa de los alimentos, ya que debido a la alta lipofilia de estos plaguicidas, el organismo los absorbe más rápidamente desde el tracto digestivo cuando están disueltos en grasa. Igualmente, estos xenobióticos se acumulan en plantas oleosas y en otros tegumentos de los vegetales y la fauna silvestre también puede estar expuesta por la ingestión de sus frutos o de las plantas mismas.

Lajmanovich *et al.* (2011) demostraron por primera vez en larvas de anfibios, que distintas formulaciones comerciales de Glifosato inhiben la actividad de las

enzimas colinesterasas y de estrés oxidativo, corroboraron la toxicidad diferencial de distintas marcas comerciales de este producto. Cabe mencionar, que estos estudios son los primeros en Sudamérica en utilizar metodologías no destructivas y técnicas de reactivación *In vitro* en estos vertebrados.

Por otro lado, Todd *et al.* (2011) examinan los efectos individuales e interactivos de la exposición al mercurio en adultos terrestres y larvas acuáticas, en los rasgos relacionados con la aptitud física del sapo americano (*Bufo americanus*) en Virginia, EE.UU. Los huevos de madres de referencia o madres contaminadas se dejaron incubar y las larvas se alimentaron con las siguientes dietas: sin adición, 2.5 mg/g y 10 mg/g de Hg total (peso seco). Los resultados demuestran que los anfibios se enfrentan a una doble amenaza de exposición a contaminantes provenientes de ambientes terrestres y acuáticos, ya que ambas vías de exposición afectaron negativamente al desarrollo de la descendencia. Conjuntamente, la acumulación de metales en anfibios adultos puede llevar a la transferencia materna de contaminantes a los huevos.

Mientras que Wagner *et al.* (2014) realizaron una evaluación de los riesgos para los anfibios a nivel europeo, en porciones de uso de la tierra con aplicaciones regulares de plaguicidas dentro de las áreas de conservación, para identificar el riesgo específico de exposición a plaguicidas dependiendo de la biología y ecología de la especie. Los resultados sugieren diferentes probabilidades de ocurrencia para especies dentro de paisajes agrícolas. Esto causa diferentes riesgos para la exposición a pesticidas, pero también se puede postular que algunas especies son más resistentes a alteraciones del hábitat para la agricultura (e.g. técnicas de cultivo mecánico y químico). Sin embargo, en el pasado, las poblaciones de muchas especies de anfibios disminuyeron en Europa occidental. La destrucción del hábitat y la intensificación de la agricultura fueron y son las principales razones de estas disminuciones, al menos para los anfibios de las tierras bajas. Por lo tanto, el uso intensivo de agroquímicos y los cambios recientes en el uso de la tierra tienen el potencial de ser una seria amenaza para las especies de anfibios, que se pueden encontrar dentro de las áreas cultivadas, independientemente de su estado actual de la UICN.

Desde otro punto de vista, Sparling *et al.* (2014) examinaron los efectos de la exposición de contaminantes en anfibios *in situ* en áreas que realmente experimentan disminuciones en sus poblaciones. Las primeras larvas de *Pseudacris regilla* (Rana de coro del Pacífico) se translocaron entre los parques nacionales Lassen Volcanic, Yosemite y Sequoia California, EE.UU.; donde se enjaularon en humedales en los años 2001 y 2002 hasta la metamorfosis. Encontrando en los tejidos de los anfibios criados en los estanques 13 contaminantes en el agua y 16 en los sedimentos de los estanques de estudio, para un total de 29 contaminantes. En donde no pudieron determinar si la incidencia o severidad de los factores fisiológicos se relacionó específicamente con la presencia general de contaminantes, aunque los prados y parques con mayores cargas de contaminantes expresaron efectos más fuertes que aquellos con menor carga contaminante. Demostrando la escasa información relacionada con las concentraciones de contaminantes en los tejidos de anfibios a los efectos tóxicos.

Asociado a esto Smalling *et al.* (2015) examinan la presencia de pesticidas, nutrientes en sedimentos y agua como indicadores de la calidad del hábitat para evaluar la bioacumulación de pesticidas en el tejido de dos especies de anfibios nativos *Pseudacris maculata* (Rana de coro boreal) y *Lithobates pipiens* (Rana leopardo) en seis humedales de los cuales tres eran restaurados (los cuales reciben agua de drenaje de azulejos subterráneos) y tres de referencias (siendo las tierras de referencia remanentes recuperadas del uso agrícola, en Iowa, EE.UU. En donde los pesticidas detectados con mayor frecuencia en sus muestras de agua fueron: atrazina, metolaclor, glifosato (herbicidas) y AMPA (degradación primaria del glifosato), que han sido históricamente uno de los plaguicidas más frecuentemente detectados en aguas superficiales y subterráneas en el Medio Oeste. Los cuales han causado anomalías reproductivas en las ranas leopardo realizados en otros estudios con estos niveles de concentraciones. Al mismo tiempo, se detectaron mezclas complejas de 17 plaguicidas, incluidos ocho fungicidas, cuatro herbicidas y cinco insecticidas, así como cuatro degradantes de plaguicidas en muestras de tejido (hígado y ranas enteras) recolectadas en 2012 y 2013. A excepción del nitrógeno, no observaron diferencias en la calidad del agua o de los sedimentos entre humedales restaurados y de referencia,

lo que indica que, desde el punto de vista de los plaguicidas, los humedales restaurados proporcionan un hábitat similar para los anfibios como humedales de referencia, aunque los anfibios que residen y se reproducen en humedales restaurados como de referencia en un paisaje agrícola, están expuestos a una amplia variedad de contaminantes a lo largo de su ciclo de vida desconociendo los posibles impactos de estas mezclas ambientales.

Mientras tanto Aguillón-Gutiérrez (2018) realizó una revisión de artículos en el cual se aborda el tema de las anomalías macroscópicas en larvas de anuros, encontrando que las anomalías macroscópicas en larvas de anuros tienen diversas etiologías y son muy variadas en cuanto su efecto en el individuo y en cuanto a la estructura morfológica que afectan. Mencionando que algunas anomalías probablemente no tienen solamente una etiología, sino una combinación de factores que las propicia (e.g. factores genéticos, ambientales, infecciosos o antrópicos) y que existen muchos tipos de contaminantes y en consecuencia muchos tipos de contaminación, por lo que también hay muchas maneras de medirla en los seres vivos. Con ello el autor, aborda dos tipos de contaminantes químicos, los interruptores endócrinos y los metales pesados; siendo la morfometría, la histoquímica y la espectroscopía las principales herramientas para medir la concentración, acumulación y efectos de contaminantes químicos en un ser vivo.

Aunado a ello menciona que, en la etapa larvaria, el espectro de anomalías es mayor que en la etapa adulta, debido a que en esta etapa los anfibios (anuros) son más vulnerables a diferentes factores ambientales, antropogénicos y muchos de ellos no llegarán a la etapa adulta. Concluyendo que la presencia de anomalías macroscópicas en larvas de anuros nos puede dar información acerca del estado de salud de una población o especie; por lo tanto, averiguar la causa de estas anomalías podría ayudar a generar estrategias de conservación para este grupo biológico y minimizar la pérdida de su biodiversidad (Aguillón-Gutiérrez, 2018).

Para el caso del área de estudio, existe un solo trabajo de Álvarez-Porebski *et al.* (2015) en donde analizaron la diferencia en la contaminación de los arroyos de la Reserva Montes Azules y los de Marqués de Comillas; para ello realizaron tomas

periódicas de agua, sedimentos en el río Lacantún y sus afluentes (Arroyo Lacanjá, Cañón de Colorado, Río Chajul, Arroyo Danta, Embarcadero Chajul, Humedal Lacanjá, Río Ixcán, Arroyo José, Arroyo Lagarto, Arroyo Manzanares, Arroyo Miranda, Arroyo Puerto Rico, Arroyo San Pablo y Río Tzendales), registrando presencia de plaguicidas organoclorados como Endrín y Dieldrín, Endosúlfan I, Heptaclor y Aldrín, y a pesar de que los autores no mencionan los valores de concentración, concluyen que en el caso de Aldrín, Endrín y Dieldrín se encontraban por debajo de los valores para producir toxicidad severa. Por otro lado, los resultados demostraron que en ningún caso se rebasaron los límites permisibles establecidos para presencia de metales pesados. Demostrando que los plaguicidas detectados provenían de las regiones con asentamientos humanos y actividad agropecuaria. Alertando que la presencia de estos contaminantes es de preocupación, debido a que el uso de la mayoría de los plaguicidas organoclorados fue prohibido en el país desde hace más de dos décadas. No obstante, todo parecía indicar que se siguen utilizando en la zona.

IV. OBJETIVOS

Objetivo general

- Analizar la presencia de minerales contaminantes (Plomo, Cadmio, Mercurio, Arsénico, Zinc y Cobre) en anuros localizados en la Laguna Jabirú de la Estación Biológica Lacanjá, al sur de la Reserva de la Biósfera Montes Azules (REBIMA) de la Selva Lacandona, Chiapas.

Objetivos específicos

- Identificar las especies de anuros que habitan en el sitio de muestreo.
- Identificar por medio de encuestas el uso de herbicidas, plaguicidas, fertilizantes de uso agropecuario y desechos de origen domestico por parte de los lugareños de la zona de estudio.
- Analizar los minerales contaminantes presentes en la piel e hígado de anuros que habitan en el sitio de muestreo.

V. ZONA DE ESTUDIO

La Estación Biológica Lacanjá se localiza al sur de la Reserva de la Biósfera Montes Azules (REBIMA) y de la Reserva de la Biosfera Lacan-Tun (RB Lacan-Tun), dentro del ejido Quiringüicharo en el municipio de Marqués de Comillas, Chiapas (Figura 3).

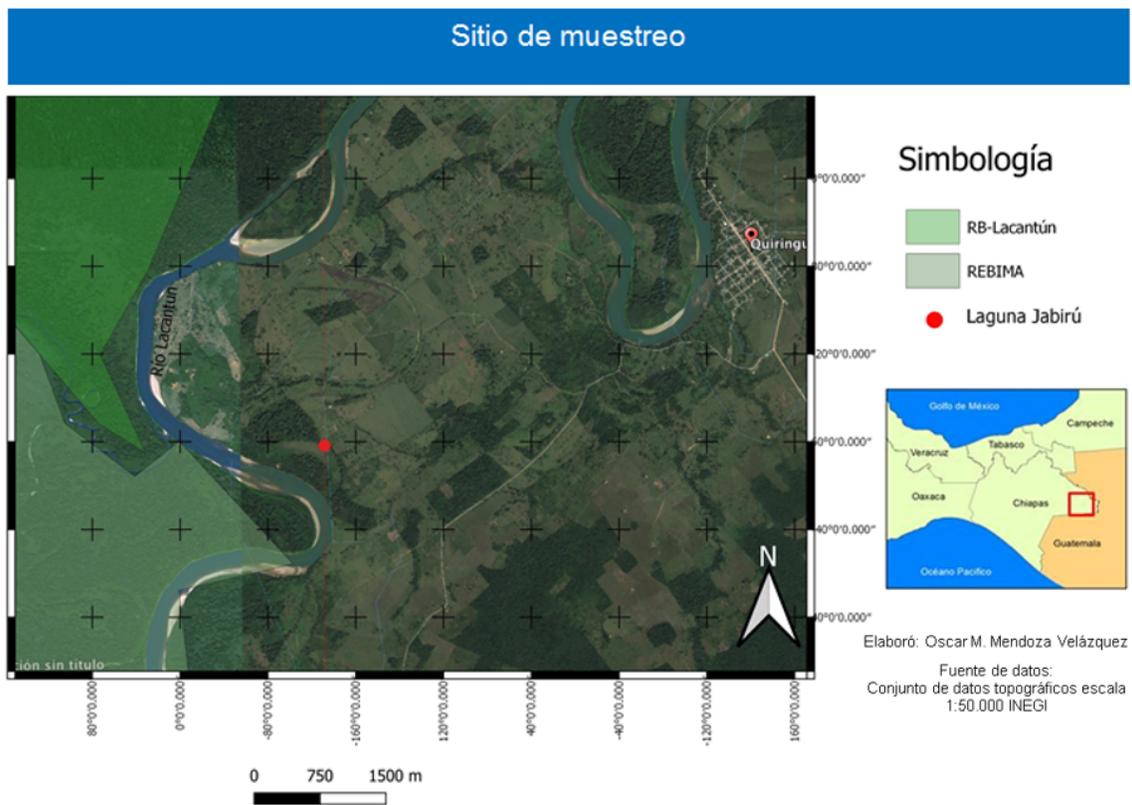


Figura 3. Laguna Jabirú ubicada en el ejido Quiringüicharo municipio Marqués de Comillas, Chiapas.

De acuerdo al sistema de Köppen, modificado por Enriqueta García (2004) la zona de estudio tiene un clima cálido-húmedo con variaciones en el porcentaje de lluvia invernal. La temperatura media anual presenta un rango de entre 19.2 y 26.7 °C, dependiendo de la altitud y muestra variaciones anuales importantes. La precipitación media anual presenta un rango de entre 1 890 y 4 300 mm, según la cota de altitud. La distribución de las lluvias a lo largo del año tiene un patrón monomodal con una estación seca bien definida entre los meses de enero a abril y una estación húmeda

que va de mayo a diciembre (Saavedra, López y Castellanos, 2015). De acuerdo con el mapa de la vegetación potencial de Rzedowski, la vegetación predominante es la Selva Alta Perennifolia o Bosque Tropical Perennifolio (Saavedra, López y Castellanos, 2015) y gracias a la heterogeneidad de condiciones ambientales, esta selva alberga alrededor de 3 400 especies de plantas vasculares de las cuales se calcula que 573 son árboles (Sosa-Aranda, 2015).

En cuanto a su geología, la cuenca media del Usumacinta está constituida fundamentalmente por rocas sedimentarias marinas que conforman estructuras y formaciones con condiciones particulares, siendo las rocas más representativas la lutitas, areniscas y conglomerados del Plioceno-Pleistoceno (Calizas del Cretácico Superior y Terciario); siendo que en la parte sur de la cuenca a lo largo de los lechos de los ríos Lacantún y Usumacinta se presentan algunos depósitos aluviales y/o lacustres (Saavedra, López y Castellanos, 2015).

Los datos edafológicos mencionan que la influencia del clima en los suelos se manifiesta fundamentalmente por la precipitación; por un lado, el patrón monomodal de la precipitación, con una estación seca marcada, explica la presencia de los luvisoles, el grupo de suelos con mayor extensión en el área. En segundo lugar, las condiciones de alta humedad (precipitación anual de 2 000 a 3 000 mm) explican la presencia de los umbrisoles y gleysoles, los primeros suelos propios de ambientes húmedos y los segundos típicos de relieves bajos con mucho aporte de humedad, y de los subgrupos dístricos (suelos con baja saturación de bases) y húmicos (acumulación de materiales orgánicos; Saavedra, López y Castellanos, 2015).

De acuerdo con Raíz (1959), el estado de Chiapas queda ubicado en la provincia fisiográfica de tierras altas de Chiapas y Guatemala misma que está dividida en cinco subprovincias: Sierras Plegadas del Norte, Meseta de Chiapas, Depresión Central, Planicie Costera de Chiapas, Sierra de Chiapas y dentro de la cual se ubica la Reserva de la Biosfera Montes Azules. Las cartas fisiográficas de INEGI (1981), muestran que, al interior de la provincia de Sierras Plegadas del Norte, se localizan básicamente tres sistemas de topoformas generales, sierra alta de laderas tendidas, sierra alta escarpada compleja, sierra alta plegada y llanura aluvial (INE-SEMARNAP,

2000). En la zona centro-este y sur se localizan amplios valles con selvas de tipo inundable por influencia de las aguas de los ríos Negro, Tzendales, Azul, Lacanjá y del propio Lacantún. Esta área y la siguiente contienen el último reducto de este tipo de ecosistema del país, ya que en su parte norte se encuentran unas pequeñas serranías que constituyen parte de los escurrimientos del río Lacanjá (De la Maza, 2015).

Aunado a esto la biodiversidad que aquí se concentra no tiene comparación con ninguna otra ANP del país, ya que en esta selva se encuentra representada 24% de la mastofauna terrestre mexicana, 44% de las aves, 10% de la herpetofauna, 40% de las mariposas diurnas y 13% de los peces (Sosa-Aranda, 2015). Es, además, el único lugar de México donde se tienen registros de una población silvestre de guacamaya roja (*Ara macao*); así como de otras especies que existen solamente en esta región como el tlacuache cuatro ojos (*Metachirus nudicaudatus*), armadillo cola de zorro (*Cabassous centralis*), salamandras (*Oedipina elongata* y *Bolitoglossa doffleini*) y el águila monera (*Morphnus guianensis*; Sosa-Aranda, 2015). Un hallazgo taxonómico de gran importancia son dos especies nuevas, una planta (*Lacandonia schismatica*) y un pez (*Lacantunia enigmatica*) que significaron la descripción, cada una, de una nueva familia y un nuevo género, así también cabe mencionar que existen algunas especies de esta subcuenca que se encuentran en categoría de amenazadas o en peligro de extinción en la Norma Oficial Mexicana (NOM-059-SEMARNAT-2010), entre ellas algunos animales emblemáticos como el jaguar (*Panthera onca*), tapir (*Tapirus bairdii*), pecarí de labios blancos (*Tayassu pecari*), guacamaya roja (*Ara macao*), águila arpía (*Harpia harpyja*), tortuga blanca (*Dermatemis mawii*) y el cocodrilo de pantano (*Crocodylus moreletii*; Sosa-Aranda, 2015).

Por todo esto, la Selva Lacandona es de vital importancia para el país y el planeta por la biodiversidad que contiene y los servicios ambientales que proporciona, además de los que ofrecerá frente al cambio climático a través de la captación, infiltración y provisión de agua de calidad y en cantidad suficientes entre otros (CONAFOR, 2010). En las últimas cinco décadas campesinas, ganaderos y madereros fueron ocupando de manera desordenada el territorio de la Selva Lacandona, ejerciendo una fuerte presión sobre los ecosistemas naturales; esta tendencia no sólo

se ha modificado, sino que sigue incrementándose año con año (Rodríguez y Rodríguez, 2015).

En cuanto al área de estudio, la Laguna “Jabirú” se encuentra fuera de la REBIMA a 400 m de la Estación Biológica Lacanjá, ubicada en un predio resguardado por Natura y Ecosistemas Mexicanos A.C. (dentro del ejido Quiringüicharo), es una laguna permanente donde se puede observar una alta congregación de fauna a lo largo de todo el año y se caracteriza por estar rodeada de vegetación primaria en buen estado de conservación (figura 4), cabe mencionar que por otro lado el predio se encuentra rodeado por áreas dedicadas a la agricultura y ganadería (figura 5). Durante la temporada de lluvias la laguna es alimentada por el desbordamiento del río Lacantún alcanzando su máximo nivel (Jamangate *com. pers.*, 2019); durante este evento algunos organismos del río tienden a moverse a la laguna para su reproducción (Aranda-Coello *com. pers.*, 2019)



Figura 4. Laguna Jabirú, rodeada por vegetación primaria, en donde algunas especies de aves utilizan esta laguna para la obtención de alimentos y dentro de las especies que se pueden avistar está el Jabirú (*Jabiru mycteria*), un ave de particular importancia por su categoría de riesgo. Así como también otros grupos de vertebrados (peces, anfibios, reptiles y mamíferos).



Figura 5. Cultivos de maíz en los alrededores del predio, donde se ubica la Laguna Jabirú.

VI. MÉTODO

6.1. Identificar las especies de anuros que habitan en el sitio de muestreo

El trabajo de campo se realizó de mayo a noviembre de 2018 durante la temporada de lluvia, debido a que en esta temporada se registra una alta congregación y actividad de anfibios, siendo así que la mayoría de las ranas pueden detectarse más fácilmente (Lips, 1999). El horario de muestreo fue de 19:00 a 23:00 hrs y a través del método de relevamiento por encuentros visuales (REV) propuesto por Crump y Scott (1994), se realizaron tres transectos de 500 m de largo por 4 m de ancho, sobre las orillas y dentro de la laguna, dejando 100 m de un transecto a otro. Las búsquedas fueron dirigidas a los distintos hábitos de las especies (*e.g.* terrestres, fosoriales, arborícolas y semiacuáticos); en cuanto a la captura de los individuos encontrados se llevó a cabo de manera manual (esto con guantes de látex estériles) y con ayuda de redes de acuario de diferentes dimensiones. Una vez capturados los organismos, se identificaron a nivel de género o especie con apoyo de claves taxonómicas de Köhler (2011) y del capítulo de libro de anfibios y reptiles de la subcuenca del río Lacantún de Ramírez, León-Pérez y Noriega (2015).

6.2. Agroquímicos utilizados en la zona de estudio

Para identificar la utilización de los agroquímicos (herbicidas, pesticidas y fertilizantes) en la zona de estudio, la frecuencia de uso, distancia o colindancia de los terrenos con respecto al río Lacantún y la manera de desecho de los electrodomésticos y derivados de estos (véase anexo 1); se realizaron 29 entrevistas semiestructuradas de preguntas abiertas, debido a que brinda una “flexibilidad” al investigador y suele ser más amena tanto para el entrevistado y para el entrevistador (Expósito, 2003). Dichas entrevistas se llevaron a cabo por las tardes en un horario de 16:00 a 18:00 hrs, en donde las personas fueron elegidas con base al conocimiento del informante el C. Cesar Jamanguete, como lo mencionan Alejo y Osorio (2016), quien además de ser un informante clave, es una persona que se sitúa en el campo y ayudó a facilitar la realización de las entrevistas en ambos ejidos, ya que existen problemas sociales y hermetismo de parte de las personas de los ejidos, no permitiendo realizar un mayor número de entrevistas, en donde únicamente se pudieron entrevistar 14 personas del

ejido Quiringüicharo y 15 del ejido Zamora Pico de Oro (dado a la cercanía de estos al sitio de estudio) en el mes de mayo de 2019. Debido a todo este hermetismo por parte de las personas de los ejidos, no fue posible realizar una clasificación de los entrevistados por rango de edad y sexo. Conjuntamente y con la autorización de los entrevistados se grabaron en tiempo real las entrevistas con apoyo de un Smartphone marca LG Q6 Plus para posteriormente corroborar la información recabada.

Las entrevistas se analizaron según Aranda-Coello (2014), en donde se agruparon todas las respuestas correspondientes a la misma pregunta, una vez agrupados se contabilizaron el número de respuestas similares, no similares y sin respuesta; posteriormente se ingresaron los datos obtenidos de las respuestas en una matriz elaborada en el programa Microsoft Excel®, para que después se obtuviera un resultado de frecuencias (de uso, distancia o colindancia de los terrenos con respecto al río Lacantún y la manera de desecho de los electrodomésticos y derivados de estos).

6.3. Minerales presentes en la piel e hígado de anuros que habitan en la Laguna Jabirú

A la par que se realizaron los muestreos mensuales (mayo de 2018 a 2019) para la identificación de anuros, se realizó la búsqueda en los márgenes de la Laguna Jabirú de organismos muertos para la toma de datos de minerales contaminantes en piel e hígado, según la metodología propuesta y adaptada por Lajmanovich *et al.* (2005), que consiste en utilizar un bajo número de individuos para su análisis (≤ 12), siendo un método no invasivo-destructivo, evita el sacrificio de organismos y se ha usado para la identificación de contaminantes en especies de anfibios con alguna categoría de amenaza o con muestras escasas de individuos, y los resultados obtenidos mediante este método son significativos. Por lo cual, únicamente se colectaron 10 muestras de piel e hígado con un peso aproximado de ± 0.20 gramos, de 10 individuos que se

encontraban muertos y en buen estado de conservación, los cuales no están dentro de alguna categoría de amenaza en la NOM-059-SEMARNAT-2010.

La extracción de la piel e hígado se realizó con ayuda de pinzas de disección, un bisturí y guantes de látex estériles, una vez obtenida la muestra fueron identificadas y almacenadas en tubos de rosca (estériles) para toma de muestra de 20 mL. Posterior a ello fueron congeladas a 70°C en campo para después ser trasladadas al Laboratorio de Bromatología y Toxicología del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Una vez en el laboratorio, se procesaron e identificaron por medio del método de espectrometría de absorción atómica (EPA, 1996) el cual consiste en agrupar por especie y posteriormente fueron homogeneizadas y pesadas (aproximadamente 0.2 g). A cada muestra se le realizó un duplicado, enseguida se procedió a ponerlas en tubos de ensaye donde fueron sometidas a digestión acida (a cada tubo se le agregó 10 mL de ácido nítrico dejándolo a digestión por aproximadamente 12 hrs), pasado ese tiempo se le agregó 1 mL de H₂O₂ y se colocaron a baño maría para acelerar la reacción. Las soluciones restantes fueron aforadas a un volumen conocido (50 mL) con agua desionizada, se almacenaron en frascos de polietileno con tapón de rosca hasta realizar su determinación por medio del método de espectrometría de absorción atómica.

Para la concentración de minerales contaminantes se calculó a partir de una curva patrón preparada con una solución del elemento mineral de 1 000 ppm, según el elemento mineral a determinar (Iturbe, 2011) y con la cual se obtuvo la ecuación de la recta, así como de la regresión lineal. Los minerales contaminantes fueron determinados en dos grupos por métodos y equipos diferentes. El Plomo (Pb), Cadmio (Cd), Cobre (Cu) y Zinc (Zn) se determinaron por espectrometría de absorción atómica con flama en el Espectrómetro Perkin Elmer 3110; mientras que para el Mercurio (Hg) y Arsénico (As) se empleó espectrometría de absorción atómica por generación de hidruros y mediante el Espectrómetro Aanalyst 100 Perkin Elmer. Para el análisis estadístico descriptivo se agruparon los datos en hojas de cálculo en el programa

Microsoft Excel®, donde se expresó la concentración promedio y la desviación estándar.

VII. RESULTADOS

7.1. Especies de anuros

Se registraron ocho especies de anuros para la Laguna Jabirú, incluidas en cuatro familias (Cuadro 1). El mes en el cual se avistó un mayor número de organismos fue el correspondiente a mayo, observando que especies de hábitos arborícolas como *Dendropsophus microcephalus*, *Smilisca baudinii*, *Tlalocohyla picta* y *Trachycephalus thyphonius*, se encontraban a nivel de suelo, debido a la sequía que se presentó para ese año (Quintana, *com. pers.*, 2019); mientras que la especie más abundante fue *Leptodactylus fragilis* encontrada en grietas que presentaba el suelo de la laguna por la sequía. De las ocho especies registradas, *Lithobates brownorum* es la única especie que se encuentra dentro de alguna categoría de riesgo dentro de la NOM-059-SEMARNAT-2010, como especie sujeta a protección especial (Pr).

Familia	Genero	Especie	n
Bufonidae	<i>Incilius</i>	<i>valliceps</i>	11
Hylidae	<i>Dendropsophus</i>	<i>microcephalus</i>	20
	<i>Smilisca</i>	<i>baudinii</i>	13
	<i>Tlalocohyla</i>	<i>loquax</i>	4
	<i>Tlalocohyla</i>	<i>picta</i>	1
	<i>Trachycephalus</i>	<i>thyphonius</i>	3
Leptodactylidae	<i>Leptodactylus</i>	<i>fragilis</i>	43
Ranidae	<i>Lithobates</i>	<i>brownorum</i>	3
		Total	98

Cuadro 1. Taxonomía de los anuros encontrados dentro de la Laguna Jabirú (JB); así como también el número de individuos muestreados por cada especie (n).

7.2. Uso de herbicidas, plaguicidas, fertilizantes de uso agropecuario y desechos de origen domestico por parte de los lugareños de la zona de estudio

Se entrevistaron un total de 29 personas en un rango de 14 a 69 años de edad, de las cuales 14 pertenecen al ejido Zamora Pico de Oro y 15 al ejido Quiringüicharo (si se desea consultar la entrevista, ver anexo 1). De las 29 personas entrevistadas, el 69% (n=20) menciono dedicarse a la agricultura, 10.34% (n=3) son jornaleros, 6.9% (n=2) ganaderos, 6.9% (n=2) se dedica a la ganadería y agricultura, 3.4% (n=1) son estudiantes y 3.4% (n=1) amas de casas (figura 6). En cuanto al uso de agroquímicos el 96.6% (n=28) mencionó utilizar algún tipo de estos en sus ocupaciones laborales y tan sólo el 3.4% (n=1) no los utiliza. En ambos ejidos se identificaron 13 herbicidas, siendo Gramoxone el herbicida mayormente mencionado por las personas entrevistadas con 76% (n=22) y seguido del Velfosato con 38% (n=11; figura 7).

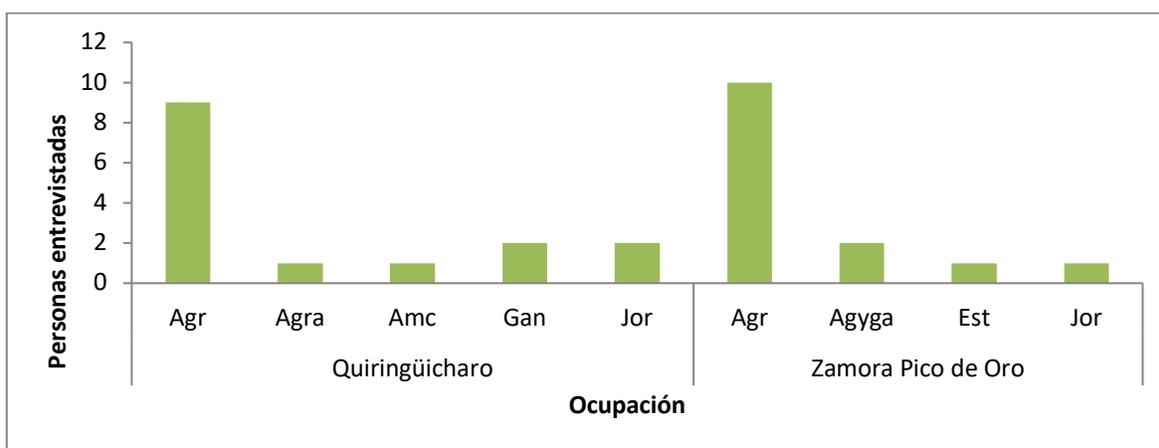


Figura 6. Se muestra el número y ocupación por ejido de las personas entrevistadas (N=29) en donde Agr (agricultor), Agra (agricultora), Amc (ama de casa), Gan (ganadero), Jor (jornalero), Agyga (agricultor y ganadero) y Est (estudiante).

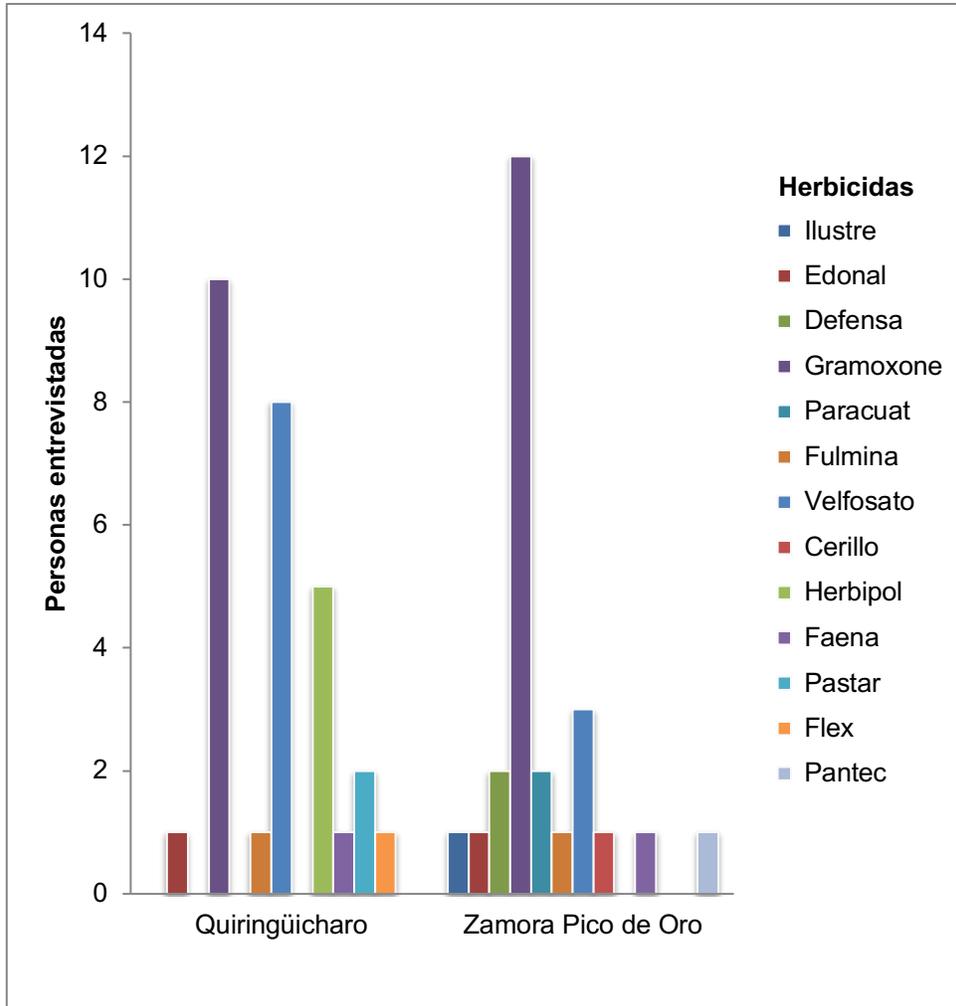


Figura 7. Número de personas que usan agroquímicos en los ejidos Quiringüicharo y Zamora Pico de Oro, Marqués de Comillas, Chiapas 2019.

Referente a la menor frecuencia de uso de fertilizantes, se encontró que el 69% (n=20) mencionó no utilizarlos y el 31% (n=9) sí, destacó el uso de la Urea y el Biogreen (figura 8). Por otra parte, el 10.34% (n=3) mencionó usar plaguicidas siendo los más usados el Arrivo y Foley; en el caso de la ganadería, se identificaron cinco tipos de agroquímicos siendo estos: Bovitras, Garraban, Ultoc, Ibermectrina y Tactic, mientras que los más utilizados son el Garraban y Bovitras.

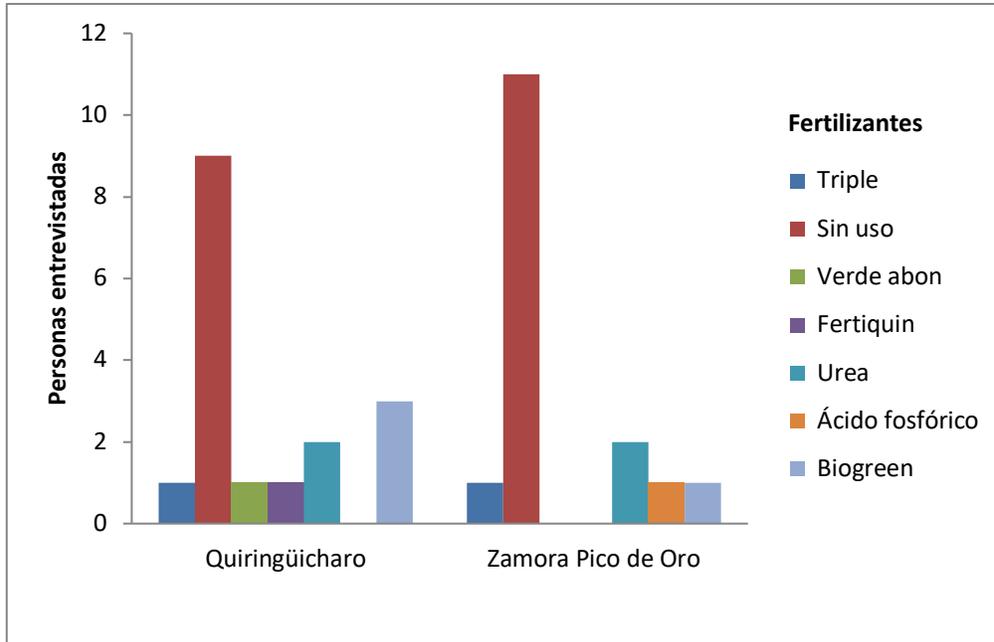


Figura 8. Número de personas que usan fertilizantes en los ejidos Quiringüicharo y Zamora Pico de Oro, Marqués de Comillas, Chiapas.

Con respecto a los terrenos y su colindancia o distancia al río Lacantún, el 31.02% (n=9) de los entrevistados mencionó tener sus terrenos en los márgenes de dicho río, en donde el 20.69% (n=6) los tiene a una distancia de 200 ± 300 m, el 10.34% (n=3) a 400 ± 500 m, el 6.9% (n=2) a 1 km, el 3.4% (n=1) a 4 km y 5 km, el 6.9% (n=2) a 10 km y 17.24% (n=5) > 30 km respectivamente. Por otra parte, se encontró que, durante todo del proceso para la producción agrícola, Quiringüicharo es el ejido con mayores aplicaciones de agroquímicos al año con dos a tres veces, mientras que Zamora Pico de Oro únicamente aplica agroquímicos una vez al año.

Con referente al manejo de residuos inorgánicos en la región, se encontró que el 66% (n=19) suele vender los productos electrodomésticos (e.g. planchas y licuadoras viejas, entre otros) a compradores de chatarra; mientras que el 31% (n=9) realiza el desecho de pilas viejas directamente al basurero local, y sólo el 3% (n=1) desecha al basurero algunos productos electrodomésticos como licuadoras.

7.3. Minerales contaminantes en piel e hígado de anuros

Se examinaron 10 muestras correspondientes a piel e hígado a tres especies de anuros (uno de *Incilius valliceps*, dos de *Smilisca baudinii* y siete de *Leptodactylus fragilis*). En las cuales se detectaron cuatro minerales no esenciales, también conocidos como metales pesados siendo estos el Plomo (Pb), Cadmio (Cd), Mercurio (Hg) y Arsénico (As), y dos minerales esenciales como el Zinc (Zn) y Cobre (Cu). Con referente a las muestras de piel, se detectó la presencia de todos los minerales antes mencionados, siendo el Cd quien presentó absorbancias muy bajas referente a los otros. Para las concentraciones más elevadas de As, Cu y Zn se presentaron en las muestras de la especie *L. fragilis*, mientras que el Pb y Hg se encontró en *S. baudinii*, y de Cd fue encontrada en *I. valliceps* (cuadro 2).

Cuadro 2. Concentración de minerales contaminantes en la piel. Los datos se presentan como concentración promedio \pm desviación estándar y todos los valores presentados están en peso húmedo. Las concentraciones se representan de la siguiente manera: microgramo del mineral/gramo de muestra (μ /g), nanogramo del mineral/gramo de muestra (ng/g) y miligramo del mineral/gramo de muestra (mg/g).

Especie	n	μ gPb/g	μ gCd/g	ngHg/g	ngAs/g	mgCu/g	mgZn/g
<i>Incilius valliceps</i>	1	38.5 \pm 8.9	8.4 \pm 2.0	669.9 \pm 150.3	1338.3 \pm 13.8	0.0154 \pm 0.0041	0.0498 \pm 0.0048
<i>Smilisca baudinii</i>	2	46.8 \pm 12.5	7.6 \pm 1.7	3170.4 \pm 4252.6	1290.0 \pm 110.5	0.0082 \pm 0.0042	0.0545 \pm 0.0034
<i>Leptodactylus fragilis</i>	7	37.7 \pm 8.7	8.2 \pm 2.0	558.5 \pm 291.9	1639.6 \pm 60.4	0.0965 \pm 0.0812	0.0821 \pm 0.0074
Total	10						

Por otro lado, en las muestras de hígado se detectó la presencia de Pb, Hg, As, Zn y Cu, para las tres especies estudiadas y únicamente se detectó Cd en muestras de *S. baudinii*, a pesar que los valores de absorbancia fueron muy bajos. Para la especie *I. valliceps* se presentaron los valores más elevados de concentración en casi la totalidad de los minerales siendo estos: Pb, Hg, As, Cu y Zn, a excepción de Cd el cual fue registrado para la especie *S. baudinii* (cuadro 3).

Cuadro 3. Concentración de minerales contaminantes en hígado. Los datos se presentan como concentración promedio \pm desviación estándar, todos los valores presentados están en peso húmedo. Las concentraciones se representan de la siguiente manera: microgramo del mineral/gramo de muestra (μ /g), nanogramo del mineral/gramo de muestra (ng/g) y miligramo del mineral/gramo de muestra (mg/g).

Especie	n	μ gPb/g	μ gCd/g	ngHg/g	ngAs/g	mgCu/g	mgZn/g
<i>Incilius valliceps</i>	1	88.9 \pm 25.1	0	374.5 \pm 0	3620.5 \pm 0	0.1117 \pm 0	0.0661 \pm 0.0021
<i>Smillisca baudinii</i>	2	36.1 \pm 10.2	9.5 \pm 0	152.2 \pm 0	1598.2 \pm 0	0.0935 \pm 0	0.0426 \pm 0.0009
<i>Leptodactylus fragilis</i>	7	37.4 \pm 8.7	0	354.7 \pm 8.3	1561.2 \pm 149.2	0.0115 \pm 0.0084	0.0453 \pm 0.0009
Total	10						

VIII. DISCUSIÓN

8.1. Especies de anuros

En este estudio se identificaron ocho de las 28 especies de anuros registrados por Ramírez, León-Pérez y Noriega (2015) para esta zona de la Selva Lacandona, siendo así que la riqueza observada en este estudio represente el 28.57% de lo reconocido para esta zona. Los factores que influyeron en la riqueza de especies registradas para esta investigación fueron el método, el tiempo de muestreo, así como la ubicación del sitio, ya que al encontrarse fuera de la REBIMA y rodeado de tierras dedicadas a las prácticas agropecuarias; la riqueza de especies registradas se vio afectada, debido a que al alterarse la estructura de la vegetación y presentar perturbación antropogénica en el hábitat se generan cambios en la riqueza de las especies de anfibios (González, 2010). Aunado a que en ambientes muy perturbados y cuya heterogeneidad vegetal es altamente reducida, empieza a darse un reemplazo de especies de áreas boscosas por aquellas típicas de áreas abiertas (Duarte-Marín, González-Acosta y Vargas-Salinas, 2018), lo que concuerda con nuestros resultados, ya que la Laguna Jabirú es un sitio que se encuentra rodeado por áreas abiertas dedicadas a las prácticas agropecuarias y ha sufrido un reemplazo de especies de áreas boscosas por aquellas típicas de áreas abiertas.

Por otra parte, la composición de especies de anfibios encontradas responde adaptativamente a la estructura física del medio ambiente, ya que según Murrieta *et al.* (2013) y Toledo *et al.* (2005), especies como *L. fragilis* (especie más abundante en este estudio) pueden encontrarse en áreas abiertas o en los bordes de los bosques y según Urbina-Cardona, Olivares-Pérez y Reynoso (2006), *L. fragilis* presenta una afinidad a los hábitats perturbados como pastizales inducidos, lo que demuestra el porqué de su abundancia en este estudio, ya que la laguna presenta estas dos situaciones. Mientras que *S. baudinii* y *T. loquax* son consideradas como generalistas (Urbina-Cardona, Olivares-Pérez y Reynoso, 2006), aunque encontrar una especie determinada en un hábitat particular no significa necesariamente que la especie prefiera ese hábitat, existiendo muchos factores como la humedad, precipitación,

temperatura y comportamiento, que podría estar determinando la presencia de una especie (Urbina-Cardona, Olivares-Pérez y Reynoso, 2006) siendo el caso del registro que se obtuvo en la Laguna Jabirú de *T. picta* (con un solo individuo), lo que podría deberse a la posible preferencia de *T. picta* a áreas abiertas con condiciones favorables para la biología de la especie o puede ser a una casualidad del registro de la especie para ese tipo de hábitat y podría demostrar el cambio que podrían estar sufriendo ciertas especies por el cambio de hábitat.

Por otra parte, se registraron a nivel de suelo a las especies *D. microcephalus*, *S. baudinii*, *T. picta* y *T. thyphoni* después de una lluvia que duro un aproximado cinco a 10 minutos, y al ser especies consideradas de hábitos arbóreos difícilmente se les puede encontrar a nivel del suelo en las selvas. Estos registros podrían ser por lo que menciona Maldonado (2017) y Pereira (2014), quienes indican que los anfibios para enfrentar algunos ambientes secos (periodos de sequía prolongados) han desarrollado estrategias tanto fisiológicas como comportamentales para disminuir la pérdida de agua, entre las cuales se encuentran el enterrarse y seleccionar microhábitats húmedos a nivel del suelo para minimizar la pérdida, así como intercambio osmótico que realizan, lo cual podría estar propiciando el registro de *D. microcephalus*, *S. baudinii*, *T. picta* y *T. thyphoni* al nivel del suelo, ya que en ese año se presentó en la región un largo periodo de sequía y según Quintana *comp. pers.* (2019) refirió que de los 15 años que lleva viviendo en el área nunca había atestiguado que la Laguna Jabirú quedara completamente seca; siendo el 2019 el primer año en presenciar dicho fenómeno y no solo en la laguna, sino en toda esta región de la Selva Lacandona. Por todo ello y considerando que los anfibios son el grupo con mayormente amenazados por el cambio climático dentro de los vertebrados (Maldonado, 2017), posiblemente la disminución de las precipitaciones y humedad del sustrato, genero esta estrategia en las especies debido a que sus ciclos reproductivos generalmente están ligados a la presencia de humedad, volviéndolos organismos sensibles a cambios hídricos y térmicos del ambiente (Maldonado, 2017; Valenzuela-Sánchez, 2012).

Asimismo, las actividades agropecuarias (el caso de la zona de estudio), someten a las especies de anfibios a un mayor aislamiento y una disminución de la calidad de los hábitats, siendo una de las causas que ha generado el declive de las poblaciones de anfibios alrededor del mundo; aunque Parra-Olea, Flores-Villela y Mendoza-Almeralla (2014) mencionan que el factor más importante para la disminución de las poblaciones de anfibios mexicanos es la deforestación y transformación de la vegetación, y según Piha (2006) el uso histórico de la tierra agrícola puede afectar negativamente a los anfibios, ya que pueden presentarse anomalías físicas, fisiológicas e incluso la muerte, aunque en algunos casos los costos de vida en hábitats agrícolas son evidentes cuando los anfibios enfrentan otros factores ambientales estresantes como la sequía que se presentó para ese año en la zona de estudio; por lo tanto los anuros registrados en la zona podrían estar evidenciando esta afectación que está causando las tierras de cultivo dado a la transformación del ecosistema a sistemas agrícolas y ganaderos que se ha presentado en los últimos 30 años en esta región, comprometiendo la conservación a largo plazo de las poblaciones de anfibios.

8.2. Uso de herbicidas, plaguicidas, fertilizantes de uso agropecuario y desechos de origen domestico por parte de los lugareños de la zona de estudio

En esta región de la Selva Lacandona y según Álvarez-Porebski *et al.* (2015), reportan que, para las comunidades localizadas frente a la porción sur de la REBIMA, el uso de pesticidas es muy común para el control de plagas en los cultivos agrícolas, así como para el control de ectoparásitos en el ganado lo cual concuerda con nuestros resultados, ya que el 96.5% de las personas entrevistadas mencionó usar algún tipo agroquímico.

Con referente al uso de agroquímicos para el control de malezas se encontró que está fuertemente arraigada a la producción agrícola en la región y su uso constantemente aumenta, confirmando lo reportado por Torres y Capote (2004) sobre la fuerte aplicación que se realiza de forma intensiva en los países tropicales de Latinoamérica, debido a la intensificación de la producción y demanda de productos agrícolas para satisfacer las necesidades alimentarias. Esto ha causado en un corto

plazo el aumentado notablemente sobre el uso de pesticidas, lo que ha generado con mayor frecuencia la presencia de residuos químicos en arroyos, humedales, lagunas, lagos y ríos; asiendo que la exposición de los organismos que habitan en los cuerpos de agua en este caso anfibios sea muy probable (Piha, 2006). Por ello, es posible y según los resultados encontrados, que la mayoría de los agroquímicos utilizados en la región terminan depositados en lagos, lagunas y ríos, dado a la topografía del lugar, lo cual afecta directamente al sitio de estudio.

Por otra parte, con los resultados de las entrevistas se encontró que en esta región de la Selva Lacandona, las personas suelen cultivar dos veces al año, por tal motivo y a diferencia de otros lugares del estado de Chiapas demuestra una intensificación anual en el uso de agroquímicos; por lo cual estas tierras de cultivo reciben altos aportes químicos anuales, lo cual podría conducir a una exposición directa en los anfibios de esta región (Brül *et al.*, 2013), y a pesar de que en las muestras estudiadas no se analizó la presencia de agroquímicos, dado que la identificación de estos compuestos suelen ser analizados por métodos y equipos diferentes a los implementados para minerales contaminantes; es probable que también exista cierta presencia de agroquímicos en los anuros de la zona de estudio, ya que Álvarez-Porebski *et al.* (2015) detectaron esta presencia de agroquímicos y metales pesados en los principales cuerpos de agua de la subcuenca del río Lacantún.

Asimismo, se identificó por medio de las encuestas el uso de 28 agroquímicos por los habitantes de Quiringüicharo y Zamora Pico de Oro, y según el trabajo de Cortinas de Nava (2007) menciona que Chiapas es uno de los estados con mayor uso de plaguicidas en la agricultura lo que se puede demostrar con nuestros resultados, ya que el número de agroquímicos encontrados demuestra este uso desmedido y sin control de los plaguicidas en esta región de la selva. Aunado a que las personas desconocen los efectos que estos pueden causar a nivel salud, ecosistémicos entre otros lo que concuerda con García-Gutiérrez y Rodríguez-Meza (2012), quienes reportan que existe en estas regiones un desconocimiento de la cantidad y tipos de plaguicidas que se aplican en los campos de cultivos y sus posibles implicaciones que pueden tener. Por ello, y a partir de este estudio, a través de platicas, talleres,

conferencias dirigidos a los pobladores de la región, se pretende generar en un mediano plazo una conciencia sobre el uso desmedido de agroquímicos y sus posibles efectos en la salud pública, así como en la vida silvestre.

Hernández *et al.* (2007) mencionan que, como estrategias para la protección y regulación del uso de agroquímicos en el país, se debe evitar su utilización, así como la prohibición o restricción de los mismos. Según los resultados obtenidos en este estudio, se refleja que hasta la fecha no se han tomado las medidas y estrategias necesarias para poder minimizar el uso y control de agroquímicos en esta región, lo que pone en peligro a la fauna silvestre como el caso de los anuros, cuya piel “desnuda”, lisa y permeable, facilita la absorción de contaminantes químicos, haciéndolos más propensos a enfermedades, trayendo a su vez declinaciones poblacionales que causaran consecuencia en la biodiversidad presente de esta región (Aguillón-Gutiérrez, 2018).

Ahora bien, de los 28 agroquímicos identificados el Gramoxone (herbicida post-emergente de un amplio espectro) es el más usado en la zona de estudio. Pese a ser un herbicida potente y tóxico, se ha registrado que presenta una baja toxicidad para peces y microcrustáceos, siendo moderadamente tóxico en aves, abejas y altamente tóxico para algas (Syngenta, 2018); si bien no se mencionan en la leyenda del producto que este agroquímico tenga presente algún grado de toxicidad en los anfibios, se tiene evidencia que el Gramoxone puede interferir en los procesos reproductivos y se ha comprobado que genera cambios morfológicos en las especies de anfibios (Lajmanovich, Izaguirre y Casco, 1998) y aunque en este estudio no se pudo comprobar la presencia de anomalías morfológicas en los anuros muestreados en la Laguna Jabirú, se encontró un espécimen de *L. fragilis* con unas protuberancias en la parte dorsal y al costado izquierdo del cuerpo que no son propias de la especie y según Lajmanovich *comp. pers.* (2020), dichas protuberancias podrían ser anomalías (de tipo tumoral) provocadas por la exposición a altas concentraciones de agroquímicos, lo cual se tendría que corroborar a través de un estudio histopatológico para confirmar lo mencionado por Lajmanovich.

Referente a esto y el alto número de agroquímicos identificados a través de las encuestas obtenidas con los pobladores de Zamora Pico de Oro y Quiringüicharo, reafirma los resultados de la investigación realizada por Álvarez-Porebski *et al.* (2015), quienes identificaron la presencia de contaminantes orgánicos en el agua, detectando que los plaguicidas provienen de las regiones de Zamora Pico de Oro y Quiringüicharo donde se presentan, una actividad agropecuaria intensiva y un aumento en los asentamientos humanos. Por lo tanto, podemos suponer que la presencia de contaminantes orgánicos en el río Lacantún y sus afluentes, puede evidenciar el contacto directo que pueden tener los organismos como los anfibios debido a los distintos insumos y derivados químicos (Lajmanovich *et al.*, 2005), ya que estos contaminantes suelen ser arrastrados por el agua desde los puntos más altos y según la topografía de la región analizada mediante el sistema de información geográfica (SIG), demuestra que los escurrimientos llegan a depositarse en cauce del río Lacantún siendo la parte más baja y con una mayor declinación de la región, lo que nos hace pensar que en estas partes más bajas se podrían presentar las mayores concentraciones de contaminantes para esta región de la Selva Lacandona.

A pesar de que se sabe que el uso de la mayoría de los plaguicidas organoclorados fue prohibido en el país desde hace más de dos décadas, todo parece indicar que se siguen utilizando en la porción sur de la Selva Lacandona (Álvarez-Porebski *et al.*, 2015), ya que con base a los resultados obtenidos en este estudio se identificó que en la región se compran agroquímicos provenientes de Guatemala, por lo tanto su regulación para la venta e insumo se vuelve imposible, reafirmando lo descrito por Álvarez-Porebski *et al.* (2015) quienes han evidenciado que en la región existe una falta de control e incumplimiento de las leyes mexicanas con referente al uso de estos agroquímicos, generando desinformación y riesgos que representa el uso desmedido de este tipo de plaguicidas (no regulados) por los habitantes y las autoridades locales.

Por otra parte, del total de los agroquímicos mencionados por los lugareños, no se identificó algún agroquímico organoclorado, aunque ellos mencionaron lo siguiente: “cuando compramos los agroquímicos, nos dicen que hay de dos tipos, los mexicanos

y los guatemaltecos, a veces compramos los guatemaltecos porque son más baratos y trabajan mejor”, lo que refleja el desconocimiento sobre la composición química y los efectos de estos agroquímicos provenientes del país vecino Guatemala. Sin embargo, Jamangate (*com. pers.*, 2019) menciona que el Edonal, Flex, Pantec y Pastar son de los agroquímicos que la gente de la zona suele comprar de Guatemala, por su bajo costo y su efecto inmediato y prologando en la eliminación de malezas.

8.3. Minerales contaminantes en piel e hígado de anuros

Según Piha (2006) quien explica que es probable que los anfibios se vean afectados por procesos agrícolas que operan a varias escalas espaciales y temporales; y tomando en cuenta que en la mayoría de los minerales que fueron identificados en este estudio (Hg, Cd, Pb, As, Zn y Cu) tienden a estar estrechamente relacionados con productos tanto de uso económico para la región (agricultura y ganadería), como de uso doméstico (desechos con un mal manejo), estos productos podrían estar aumentando la carga de sustancias en la atmósfera, hidrósfera, suelos y sedimentos, provocando episodios críticos de contaminación en el ambiente (García-Gutiérrez y Rodríguez-Meza, 2012).

Por otra parte, a través de las encuestas y avistamientos directos en la zona de estudio, se identificaron distintas actividades (*e.g.* ganadería, agricultura, minería para la obtención de grava y arena, y manejo inadecuado de residuos domésticos), los cuales conllevan al insumo de algunos productos (o bien la actividad por sí sola) que podrían justificar la presencia de los minerales detectados en los tejidos de los anuros que fueron analizados en el laboratorio. Por ejemplo, el Arsénico (As) es uno de los elementos tóxicos más abundantes de nuestro ambiente, pero la incorporación del As al agua resulta de procesos naturales y de actividades humanas (*e.g.* la minería, las industrias, la aplicación de fertilizantes y plaguicidas; Mardirosian, 2015) y con los resultados de este estudio se puede corroborar la presencia de As en la piel e hígado de los anuros, lo que demuestra que la aplicación de plaguicidas y mal manejo de desechos domésticos se está volviendo un factor que contribuyendo a la presencia de este metal en el tejido de los organismos encontrados y analizados. Igualmente, la presencia de Cadmio (Cd) en los tejidos analizados, se puede deber al mal uso de los

desechos domésticos que se realizan en esta región, sobre todo por el desperdicio de baterías, pinturas, recubrimientos metálicos, plásticos por mencionar algunos; así como el uso de diversos fertilizantes, y según la Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR, 2008), el Cadmio (Cd) se conoce que se libera al medio ambiente por medio de fertilizantes de carbón, minerales y desechos domésticos lo que sustenta la presencia de este mineral contaminante en las muestras analizadas.

Asimismo, la presencia de Hg, Pb, Cu, Zn, As y Cd en la piel e hígado de las especies *L. fragilis*, *I. valliceps* y *S. baudinii*, pueden estar influenciadas por alto grado de uso de los agroquímicos para el sector agrícola y ganadero en la región, y según nuestros resultados obtenidos a través de las encuestas realizadas en la zona, la mayoría de las personas usan algún tipo de agroquímico dentro de sus ocupaciones, asociado a un mal manejo de desechos de origen doméstico; lo que aumenta la incidencia de contaminantes en los cuerpos de agua en donde habitan los anuros de la zona de estudio. Todo esto concuerda según reportado por Loumbourdis y Wray (1998) y Jiménez (2001), quienes mencionan que el Hg, Pb, Cu y Zn suelen usarse dentro del sector agrícola sobre todo en el tratamiento de semillas y se ha encontrado en desechos de pilas eléctricas, proceso de combustión del carbón y petróleo (como lo es el caso del uso de lanchas motorizadas), insecticidas, fungicidas, mordientes, pigmentos, preservadores de madera, desodorantes, desinfectantes y tintes; demostrando el porqué de la presencia de estos minerales contaminantes encontrados en el hígado y piel de los organismos analizados del área de estudio.

Sin embargo, en esta zona de la Selva Lacandona podrían ser muchas más las fuentes de contaminación y los contaminantes presentes en los anuros derivados de las distintas actividades antropogénicas (ganadería, agricultura, minería para la extracción de grava y manejo inadecuado de residuos). Siendo de menor número las que derivan de procesos naturales, aunque para corroborar esto se necesitan realizar investigaciones donde se pueda identificar de manera puntual la fuente de contaminación. Los resultados obtenidos en este estudio evidencian una alta prevalencia del uso de agroquímicos (principalmente herbicidas), generando una preocupación, ya que muchos contaminantes claves como metales pesados (Pb, Cd,

Hg, As, Cu y Zn) y agroquímicos tienen efectos tóxicos letales (mortalidad) y efectos subletales para los anfibios como malformación, cambios de comportamiento, tiempo de desarrollo y metamorfosis (Peltzer *et al.*, 2013).

Otro factor que impacta de forma indirecta y se ve reflejado en los contaminantes presentes en la piel de los anuros, es la distancia que tiene los basureros ejidales con respecto al río Lacatún. En Quiringüicharo la distancia del basurero ejidal al río fue de 3 km y en Zamora Pico de Oro fue de 2.8 km; y analizando las curvas de nivel con el Sistema de Información Geográfica QGis, se observó que la altura de los basureros tanto de Quiringüicharo como Zamora Pico de Oro se encuentra a 200 msnm en los puntos más altos, con referente al río Lacatún él cual se encuentra a 120 msnm en sus partes más bajas, evidenciando que muchos de los desechos o productos secundarios generados en estos ejidos llegan a terminar en las zonas más bajas en esta región, es decir al río Lacantún, y ya que los contaminantes también pueden ser arrastrados por las corrientes de aire y agua permitiendo su transporte a grandes distancias (López-Geta *et al.*, 1992; García-Gutiérrez y Rodríguez-Meza, 2012) es de esperarse que en un futuro cercano esto traiga como consecuencia una dispersión y acumulación de contaminantes tanto en el río como en la atmósfera de la región.

8.4. Concentración de minerales contaminantes en piel e hígado de anuros

Bulog *et al.* (2002) mencionan que varios estudios informaron sobre las concentraciones de Mercurio (Hg) en los tejidos de los vertebrados, pero sólo unas pocas en el grupo de los anfibios, reportando que aún existe un desconocimiento acerca del mecanismo de acción del Hg en las diferentes especies de anfibios. Los resultados de este trabajo aporta al conocimiento sobre el tema y demuestra que las mayores concentraciones de Hg también se pueden presentar en la piel (como lo encontrado en las tres especies de anuros analizadas), y no únicamente en el hígado, como lo reportaron los trabajos de Bulog *et al.* (2002) en su estudio con *Proteus anguinus*, y el estudio de Gerstenberger y Pearson (2002) con *Rana catesbeiana*; esto

porque a pesar de ser el hígado un órgano “blanco”, no será el único que contenga la mayor concentración del agente toxico (Andrinolo, Sedan y Oliver, 2018) como los resultados obtenidos.

Con respecto al Plomo (Pb) se ha descubierto que ingresa a los organismos principalmente por la vía respiratoria, siendo absorbido por la sangre y una vez en el hígado (uno de sus órganos "blanco"), es distribuido al resto de los órganos expresando la toxicidad en distintas localizaciones (Goyer, 1981; Pérez, 1994). Por ello, el Pb suele estar presente en los distintos tejidos y órganos, no depositándose de una manera localizada dentro de los individuos del grupo de anfibios, en este caso los anuros; esto mencionado por Goyer (1981) y Pérez (1994) concuerda con los resultados obtenidos, ya que las concentraciones de Pb encontradas se presentaron de una manera distinta en las tres especies. Para *I. valliceps* la mayor concentración se encontró en el hígado, mientras que en *S. baudinii* lo fue en la piel, y en *L. fragilis* se presentó en ambos tejidos. Y en el caso de los anuros un factor que puede estar interviniendo en la deposición de Pb es el tipo de nicho que ocupa cada especie, en donde especies terrestres como *I. valliceps*, el sedimento juega un papel importante en la absorción y deposición de contaminantes, ya que según Álvarez-Porebski *et al.* (2015) en el sedimento los contaminantes se depositan en mayor concentración; debido a esto, en especies arborícolas como *S. baudinii*, que mantienen un menor contacto con el suelo, se presentó una mayor concentración de Pb en su hígado. Por lo cual se podría suponer que las especies que están en más contacto con los sedimentos presentaran una mayor concentración de Pb en su hígado, indicando ser más susceptibles a estos minerales contaminantes, lo que podría afectar a su morfología, fisiología y comportamiento.

Con referente a la concentración de Arsénico (As), en *I. valliceps* y *S. baudinii* quienes presentaron mayor concentración en el hígado, a diferencia de *L. fragilis* que se encontró en la piel, estos niveles de concentración de As concuerdan con los únicos tres estudios que se ha realizado con esta clase de vertebrados en donde Bulog *et al.* (2002) encontraron valores aumentados de As en el integumento (piel) de la salamandra pigmentada (*Proteus anguinus parkelj*); mientras Hopkins *et al.* (1998)

evidencian la presencia de As en el hígado de varios anfibios de un sitio contaminado y Moriarty, Koch y Reimer (2013) reportan concentraciones similares de As en todos los tejidos y órganos de *Rana clamitans* y *Bufo americanus*, lo que concuerda con los resultados obtenidos para este mineral contaminante, aunque cabe mencionar que se desconoce cuál es la forma en que los anfibios acumulan As en sus órganos y tejidos.

Aunado a esto, en *I. valliceps* y *S. baudinii* se encontró una mayor concentración de Cobre (Cu) en el hígado, mientras que en *L. fragilis* se presentó en la piel; esto puede ser debido a que el Cu (que es un metal esencial) tiene una participación en diferentes reacciones enzimáticas, encontrándolo regularmente en muchos tejidos y en concentraciones relativamente altas (Loumbourdis y Wray, 1998) como el caso de *I. valliceps*, *S. baudinii* y *L. fragilis*, lo que demuestra que en los anfibios se pueden encontrar concentraciones mayores de Cu en el hígado (principalmente) y en la piel. Por lo tanto, los niveles aumentados de Cu presentes en el hígado podrían ser indicativos del papel que juega fisiológicamente el hígado como órgano de desintoxicación y/o almacenamiento (Loumbourdis y Wray, 1998). Con relación al Zinc (Zn) presente en *I. valliceps* la mayor concentración se encontró en el hígado, mientras que en *S. baudinii* y en *L. fragilis* se presentó en la piel; esto podría ser debido a un mecanismo adaptativo específico por parte de los anfibios, al poder absorber Zn del medio ambiente para sus procesos metabólicos y las reacciones catalizadas a través de transferencia al riñón, siendo este proceso esencial para ellos (Jaffar y Pervaiz, 1989; Taiwo *et al.*, 2014).

Por último, es importante mencionar que es complicado realizar una comparación de la concentración de los minerales contaminantes identificados en este estudio con datos publicados en otros artículos, ya que desde 1996 la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA por sus siglas en inglés) menciona que no hay criterios específicos para las etapas de la vida terrestre en anfibios, concordando con lo reportado por Grane *et al.* (2016) sobre lo escasos datos de toxicidad en anfibios adultos y de hábitos terrestre, realizando únicamente investigación en etapas larvarias. Por lo tanto, este trabajo será el primero en demostrar la presencia de minerales contaminantes a partir de un método no invasivo

(sin sacrificios de ejemplares) y con un número pequeño de muestras que reflejan la deposición de contaminantes en los anuros adultos tanto de la zona de estudio, como para Chiapas y México.

8.5. Proceso de biomagnificación

La biomagnificación, es la propagación sucesiva de la bioconcentración de los diferentes eslabones que participan a lo largo de la cadena trófica, siendo un ejemplo de estos, el plaguicida DDT (Dicloro Difenil Tricloroetano); por ello, es importante identificar la presencia de contaminantes en fauna silvestre que se encuentran en la parte baja de la cadena trófica de un ecosistema, y que estén interconectadas entre sí mediante relaciones de alimentación como el caso de los anfibios, ya que se ha reportado que acumulan altas concentraciones de metaloides y contaminantes orgánicos en sus tejidos (Unrine *et al.*, 2007); asociado a la alta propensión a bioacumular contaminantes, aumentando el riesgo de experimentar efectos nocivos en los organismos (Hoff *et al.*, 1999; Unrine *et al.*, 2007).

En relación a ello, Hopkins (2007) menciona que los anfibios son de particular importancia toxicológica y ecológica porque cierran la brecha entre el paisaje acuático y terrestre. Por lo que se pueden utilizar como indicadores de presencia de metales y contaminantes debido a su ingesta dietética, ya que se alimentan de insectos herbívoros que pueden haber acumulado metales de plantas acuáticas que fueron absorbidas a través del suelo (Taiwo *et al.*, 2014). Así como a través de la absorción directa del agua y sedimentos contaminados debido a la fisiología y la morfología única de la piel que facilita la absorción contaminante (Van Meter *et al.*, 2014; Aguillón-Gutiérrez, 2018).

Por lo tanto, los resultados del presente estudio aportan al conocimiento y entendimiento de los efectos que causan las actividades humanas hacia poblaciones de anfibios, en este caso del orden de los anuros, ya que actualmente se conoce total o parcialmente que la causa de muchas anomalías morfológicas, fisiológicas y comportamentales en anfibios, es por la exposición a contaminantes (agroquímicos y metales pesados). Siendo uno de los factores que considerado como causantes del

declive poblacional en anfibios (Aguillón-Gutiérrez, 2018). Por lo tanto, se debería resaltar la importancia de estudiar a estos organismos, ya que se sabe que muchos anfibios son componentes cuantitativa y cualitativamente importantes en ecosistemas de agua dulce, y, por tanto, la presencia de sustancias tóxicas en anfibios puede provocar a mediano plazo la acumulación y bioconcentración de los contaminantes en sus depredadores (Marco, 2002).

IX. CONCLUSIONES

- La Laguna Jabirú es de vital importancia para la conservación de los anfibios anuros de esta zona, ya que ahí se registró el 28.57% de la riqueza descrita para esta región de la Selva Lacandona, así como la presencia de una especie categorizada como especie sujeta a protección especial dentro de la NOM-058-SEMARNAT-2010 (*Lithobates brownorum*). Por otro lado, *Leptodactylus fragilis* evidencia con su abundancia el efecto que tienen los sistemas loticos cuando se encuentra rodeadas por tierras dedicadas a la agricultura y ganadería como el caso de la Laguna Jabirú.
- En esta región de la porción sur de la Selva Lacandona durante el año de muestreo se presentó una fuerte sequía, lo que provocó que cuerpos acuíferos que solían ser permanentes se secarán, causando muertes de algunos organismo que depende de estos sistemas acuáticos (como en el caso de los anuros encontrados en la zona de estudio), y si las condiciones siguen siendo las mismas para los próximos años debido al efecto del cambio climático, podría representar un peligro para la conservación de las poblaciones de anuros que habitan en este y los demás cuerpos de agua aledaños a la Laguna Jabirú.
- Las prácticas agrícolas y ganaderas son de las actividades económicas más importantes para esta región de la Selva Lacandona; por lo tanto, la mayoría de las personas se dedican a estas actividades, existiendo una masificación por la condicionante de cultivar dos veces al año. A diferencia de otros lugares del estado y del país, en esta región se vierte el doble de contaminantes lo que representa una amenaza latente para la biodiversidad y en específico para aquellos organismos que dependen directamente de los cuerpos de agua.
- Existe una fuerte dependencia del uso de agroquímicos para la producción agrícola y ganadera en esta región de la Selva Lacandona, en especial con los herbicidas Gramoxone y Velfosato siendo estos los más usados por parte de los lugareños; mientras que el uso de pesticidas y fertilizantes es de menor frecuencia.

- La distancia de las tierras dedicadas a las prácticas agropecuarias es muy corta con respecto al cuerpo de agua principal del río Lacantún, así como también la ubicación de los basureros ejidales y el manejo inadecuado de los residuos domésticos. Por lo que todos los contaminantes que son generados en estos sitios son arrastrados por el aire y el agua, contaminando así al ecosistema completo, representando otra problemática la cual debería prestársele atención, sobre todo por el crecimiento poblacional que está teniendo esta zona lo que seguramente traerá consecuencias negativas a la biodiversidad de la selva.
- La presencia de Pb, Hg, As, Cu y Zn en la piel e hígado de los anuros analizados, se encuentra relacionada con las actividades antropogénicas de la región; el Cu y Zn son minerales esenciales en los organismos, una alteración en la concentración de estos podría representar un riesgo para los anuros, ya que en altas concentraciones estos pueden llegar a ser tóxicos y presentar efectos adversos a los organismos.
- La concentración de minerales contaminantes en la piel e hígado dependerá del mecanismo de acción y el órgano “blanco”, así como también del método de absorción y el hábito de cada especie de anuro; aunque para poder conocer y comprender todo esto se necesitan realizar más estudios ecotoxicológicos durante la etapa adulta de estos organismos.
- Con base a la literatura consultada se reconoce que la exposición a minerales contaminantes y agroquímicos pueden llegar a generar anomalías morfológicas, fisiológicas y comportamentales en los anfibios, debido a esto, varios expertos en el tema han considerado a la contaminación como uno de los factores que contribuye al declive de poblaciones de anfibios anuros en todo el mundo.
- Tanto en el estado de Chiapas como en el resto del país se ha prestado poco interés a la contaminación de los ecosistemas y el efecto que causa la presencia de contaminantes en los ambientes acuáticos. Por lo tanto, se propone que estudiantes, investigadores e instituciones gubernamentales encargados de este tema, presten mayor interés a esta problemática para generar estrategias

que puedan solucionar de una forma sustentable y con el involucren a las comunidades.

- Por último, priorizar temas de investigación de esta índole podría ayudar a instituciones gubernamentales a generar planes de manejo y conservación, en los cuales las poblaciones de los ecosistemas tropicales sean consideradas, en particular en esta región de la Selva Lacandona. Este estudio es el primero en llevarse a cabo con el grupo de los anuros para esta zona, Chiapas y posiblemente para México, los datos obtenidos aquí servirán como antecedentes para otros investigadores interesados en el tema.

X. PROPUESTAS Y RECOMENDACIONES

- Se sugiere que las instituciones gubernamentales encargadas de la regulación y autorización del uso de agroquímicos en el país prioricen el cumplimiento que marca el Reglamento en Materia de Registros, Autorizaciones de Importación y Exportación y Certificados de Exportación de Plaguicidas, Nutrientes Vegetales, Sustancias y Materiales Tóxicos o Peligrosos; evitando la venta y el uso de los agroquímicos organoclorados en esta región fronteriza de la selva Lacandona, sobre todo aquellos provenientes de manera ilegal del país vecino de Guatemala.
- Es necesario realizar campañas de concientización en los ejidos de la zona y tratar con ello de informar a los pobladores acerca de los riesgos que conllevan el uso desmedido de agroquímicos, su manejo inadecuado de residuos, la contaminación de los cuerpos acuíferos y las implicaciones que puede tener para su salud y bienestar; asimismo para la salud de los ecosistemas acuáticos de la región y la fauna que depende de estos.
- Se recomienda realizar un monitoreo constante de los contaminantes en los ecosistemas terrestres y acuáticos para evitar que en el futuro cercano se presenten complicaciones para las poblaciones de anuros de la región y con ello, pueda presentarse un desbalance en la cadena trófica de la zona; así como también identificar el efecto de la presencia de contaminantes en los ambientes terrestres y acuáticos. Cabe mencionar que los minerales contaminantes detectados en este estudio no son todos los contaminantes presentes en el ecosistema, aún faltan muchos más por identificar.
- Se recomienda implementar métodos que garanticen contar con un mayor número de muestras y que eviten el sacrificio indiscriminado de organismos; así como también, realizar estudios durante la etapa larvaria de este grupo, con la finalidad de documentar el efecto que causa la presencia de contaminantes en las poblaciones de anuros de la región.
- Se sugiere realizar un estudio con los productos comestibles que provienen de los cuerpos acuíferos de la región para conocer si existe presencia de

contaminantes en sus tejidos y órganos, ya que, si los niveles superan los límites permisibles para el consumo humano, el consumo de estos podría estar poniendo en riesgo la salud de las personas que dependen de estos organismos para su alimentación diaria.

- Por último, se deben de realizar más estudios toxicológicos y ecotoxicológicos con el grupo de los anuros (durante todas las etapas de su ciclo de vida) para poder generar criterios de toxicidad y proponer leyes que ayuden a proteger a este grupo de organismos.

XI. REFERENCIAS DOCUMENTALES

- Aguillón-Gutiérrez, D. R. 2018. Anomalías macroscópicas en larvas de anfibios anuros. *Revista Latinoamericana de Herpetología*. (1): 08-21.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2008. ToxFAQs™ for Cadmium. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxfaqs/tf.asp?id=47&tid=15>. Consultado el 16 de junio de 2020.
- Alejo, M. y Osorio, A. 2016. El informante como persona clave en la investigación cualitativa. *Gaceta Pedagógica*. 35: 74-85.
- AmphibiaWeb. 2013. Information on amphibian biology and conservation. <http://amphibiaweb.org>. Consultado el 08 de marzo de 2018.
- AmphibiaWeb. 2020. Species by the numbers. <https://amphibiaweb.org/amphibian/speciesnums.html>. Consultado el 14 de julio de 2020.
- Anguita, R. 2004. La piel más sensible del mundo: un veinte por ciento de los anfibios del planeta se encuentra amenazado. *Ambienta: la revista del Ministerio de Medio Ambiente*. (29): 28-33.
- Andrinolo, D., Sedan, D. y Oliver, C. 2018. Toxicidad órgano específico. En: Giannuzzi, L. 2018. Toxicología general y aplicada. Editorial de la Universidad de la Plata. Buenos Aires, Argentina. Pp. 106- 170.
- Álvarez-Porebski, P., Hernández, G. L., Gómez-Ruiz, H. y Ramírez-Martínez, C. 2015. Calidad del agua en la subcuencua del río Lacantún. En: Carabias, L. J., De la Maza E. J. y Cadena R. Conservación y desarrollo sustentable en la Selva Lacandona. 25 años de actividades y experiencias, México, Natura y Ecosistemas Mexicanos A. C. Pp. 177-185.
- Aranda-Coello, J. M. 2014. Estado actual de la población de caimanes (*Caiman crocodilus*) y posibilidades socioeconómicas para su manejo en el Refugio Nacional De Vida Silvestre Caño Negro, Costa Rica. Tesis de maestría.

Instituto Internacional en Conservación y Manejo de Vida Silvestre,
Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

Baird, C. 2001. Química Ambiental. Editorial Reveté S.A. España.

Barthalmus, G. 1994. Biological roles of amphibian skin secretions. En: H. Heatwole and G. T. Barthalmus (eds.), *Amphibian Biology*. Surrey Beatty and Sons, Chipping Norton, NSW, Australia. Pp. 382-410.

Barragán, K. y Karol, B. 2002. Enfermedades de reptiles y anfibios. *Boletín GEAS*. 3(1-6): 18-27.

Bergeron, C. M., Bodinof, C. M., Unrine, J. M. y Hopkins, W. A. 2010. Bioaccumulation and maternal transfer of mercury and selenium in amphibians. *Environmental Toxicology Chemistry*. 29 (4): 989–997.

Brühl, C. A., Schmidt, T., Pieper, S., y Alscher, A. 2013. Terrestrial pesticide exposure of amphibians: An underestimated cause of global decline?. *Scientific Reports*. 1135 (3): 1-4.

Bulog, B., Mihajl, K., Jeran, Z. y Toman, M. J. 2002. Trace element concentrations in the tissues of *Proteus anguinus* (Amphibia, Caudata) and the surrounding environment. *Water, Air, and Soil Pollution*. 136: 147-163.

Cortinas de Nava, C. 2007. Situación en México de las existencias de plaguicidas sujetos al Convenio de Estocolmo. INE. México, D.F. Pp. 24.

CONAFOR. 2010. Servicios ambientales y cambio climático. <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/5/2290Servicios%20Ambientales%20y%20Cambio%20Clim%20c3%a1tico.pdf>. Consultado el 14 de junio de 2020.

Christin, M. S., Menard, L., Gendron, A. D., Ruby, S., Cyr, D., Marcogliese, D. J., y Fournier, M. 2003. Effects of agricultural pesticides on the immune system of *Xenopus laevis* and *Rana pipiens*. *Aquatic Toxicology*. 67(1): 33–43.

- Croteau, M., S. Luoma, S. N. y Stewart, A.R. 2005. Trophic transfer of metals along freshwater food webs: Evidence of cadmium biomagnification in nature. *Limnol. Oceanogr.* 50 (5): 1511-1519.
- Crump, M. L. y Scoot N. J. 1994. Relevamientos por Encuentros Visuales. Pp. 80-87. En: Heyer, Donnelly, W. R., M. A., McDiarmid, R. W., Hayek, L. A. C. y Foster, M. S. Medición y Monitoreo de la Diversidad Biológica. Métodos Estandarizados para Anfibios. Smithsonian Institution Press. Washington, U.S.A.
- De la Maza, E. J. 2015. Caracterización de la subcuenca del Lacantún. En: Carabias, L. J., De la Maza, E. J. y Cadena, R. 2015. Conservación y desarrollo sustentable en la Selva Lacandona. 25 años de actividades y experiencias, México Natura y Ecosistemas Mexicanos A.C. Pp 79-85.
- Duellman, W. E. y Trueb, L. 1994. Biology of amphibians. Johns Hopkins University Press, Baltimore. EE. UU. Pp. 670.
- Durante, R. A. P. 2016. Análisis de las tendencias del cambio de uso de suelo en el municipio de Marqués de Comillas, Chiapas. Tesis de maestría. Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México, México.
- Duarte-Marín, S., González-Acosta, C. y Vargas-Salinas, F. 2018. Estructura y composición de ensamblajes de anfibios en tres tipos de hábitat en el Parque Nacional Natural Selva de Florencia, Cordillera Central de Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 42(163): 227-236.
- Expósito, V. M. 2003. Diagnostico rural participativo: Una guía práctica. Centro Cultural Proveda. Dominicana. Pp. 118.
- Environmental Protection Agency. 1996. Amphibian toxicity data for water quality criteria chemicals. Corvallis. EE. UU. Pp. 192.
- Ferraro, D. 2005. La sustentabilidad agrícola en la Pampa Interior (Argentina): desarrollo y evaluación de indicadores de impacto ambiental del uso de

pesticidas y labranzas usando lógica difusa. Argentina. Tesis de Doctorado. Escuela para Graduados Alberto Soriano. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Flores-Villela, O. 1993. Herpetofauna of Mexico: distribution and endemism. En Biological diversity of Mexico: origins and distributions, Ramamoorthy, T.P., Bye, R., Lot, A. y Fa, J. Oxford University Press, New York, U.S.A. p. 253-280.

Frost, D. R. 2020. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0. <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York, USA.

García, E. 2004. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen, Serie Libros, núm. 6, Instituto de Geografía, UNAM, México.

García, G. F., Cruz, P. I. y Mangione, S. 2011. Caracterización histomorfológica de la piel de especies de *Leptodactylus* del grupo *fuscus* (Anura: Leptodactylidae), destacando la capa de Eberth-Katschenko. *Acta Zoológica Lilloana*. 151(55): 33-43.

García-Gutiérrez, C. y Rodríguez-Meaza, G. D. 2012. Problemática y riesgo ambiental por el uso de plaguicidas en Sinaloa. *Ra Shimai*. 3 (8): 1-10.

Gerstenberger, S., y Pearson, R. 2002. Mercury Concentrations in Bullfrogs (*Rana catesbeiana*) Collected from a Southern Nevada, USA, Wetland. *Environmental Contamination and Toxicology*. New York, USA. 69(2): 210–218.

Giannuzzi, L. 2018. Capítulo 1: Principios generales de toxicología. En: Giannuzzi, L. 2018. Toxicología general y aplicada. Editorial de la Universidad de la Plata. Buenos Aires, Argentina. Pp. 5-27.

González, G. D. C. 2010. Ensamblaje de anfibios y su relación con variables del microhábitat en un gradiente potrero-borde-interior de bosque en la Reserva Forestal San José en la Laguna Protectora y Productora de Pedro Palo (Tena,

Cundinamarca). Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.

Grane, M., Finnegan, M., Weltj, L., Kosmala-Grzechnik, S., Gross, M. y Wheeler, J. R. 2016. Acute oral toxicity of chemicals in terrestrial life stages of amphibians: Comparisons to birds and mammals. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. (80): 355-341.

Halliday, T. y Adler, K. 2007. La gran enciclopedia de los anfibios y reptiles. Libsa. Madrid. Pp. 240.

Haywood, L. K., Alexander, G. J., Byrne, M. J. y Cukrowska, E. 2004. *Xenopus laevis* embryos and tadpoles as models for testing for pollution by zinc, copper, lead and cadmium. *African Zoology*. 39(2): 163–174.

Hecnar, S.J. 1995. Acute and chronic toxicity of ammonium-nitrate fertilizer to amphibians from southern Ontario. *Environ Toxicol Chem*. 14(12): 2131–7.

Heyer, R., Donnelly, M., McDiarmid, R., Hayek, L. y Mercedes, F. 2001. Medición y monitoreo de la diversidad biológica, métodos estandarizados para anfibios. Editorial Universitaria de la Patagonia, Argentina. Pp. 349.

Hernández, G. M. M., Jiménez, C. C., Jiménez, A. F. R. y Arceo, G. M. E. 2007. Caracterización de las intoxicaciones agudas por plaguicidas: perfil ocupacional y conductas de uso de agroquímicos en una zona agrícola del Estado de México, México. *Rev. Int. Contam. Ambient*. 23 (4): 159-167.

Hernández-Ordóñez, O., Arroyo-Rodríguez, V., González-Hernández, A., Russildi, G., Luna-Reyes, R., Martínez-Ramos, M. y Reynoso, V. H. 2014. Range extensions of amphibians and reptiles in the southeastern part of the Lacandona rainforest, Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 86: 457-468.

Hernández-Ordóñez, O., Martínez-Ramos, M., Arroyo-Rodríguez, V., González-Hernández, A., González-Zamora, A., Zarate, D. A. y Reynoso, V. H. 2015. Distribution and conservation status of amphibian and reptile species in the

- Lacandona rainforest, Mexico: an update after 20 years of research. *Tropical Conservation Science*. 1 (7): 1-25.
- Hickman, C. P., Roberts, L. S., y Larson, A. 1998. Principios integrales de zoología. Mc Graw-Hill. 10ª edición. Pp. 922.
- Hopkins, W. A., Mendonça, M. T., Rowe, C. L., y Congdon, J. D. 1998. Elevated trace element concentrations in Southern Toads, *Bufo terrestris*, exposed to coal combustion waste. *Environmental Contamination and Toxicology*. 35(2): 325–329.
- Hopkins, W.A. 2007. Amphibians as models for studying environmental change. *ILAR Journal*. 3(48): 270-277.
- INE-SEMARNAP. 2000. Programa de manejo de la Reserva de la Biosfera Montes Azules. Instituto Nacional de Ecología-Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (INE-SEMARNAP), México. Pp. 256.
- Iturbe, F. y Sandoval, J. 2011. Manual de análisis de alimentos, fundamentos y técnicas. Facultad de Química, UNAM. Ciudad de México, México.
- Jaffar, J. y Pervaiz, S. 1989. Investigation of Multi organ Heavy Metal trace metal content of meat of selected dairy, poultry fowl and fish species. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research*, 32:175-177.
- Jiménez, B. E. 2001. La contaminación ambiental en México: causas, efectos y tecnología apropiada. Editorial Limusa. México. Pp. 928.
- Kalman, B. 2007. Ranas y otros anfibios. Crabtree Publishing Company. EE. UU. Pp 32.
- Köhler, G. 2011. Amphibians of Central America. Ed. Herpeton. Germany.
- Lajmanovich, R. C., Izaguirre, M. F. y Casco, V. H. 1998. Paraquat Tolerance and Alteration of Internal Gill Structure of *Scinax nasica* Tadpoles (Anura: Hylidae). *Environmental Contamination and Toxicology*. 34(4): 364–369.

- Lajmanovich, R., de la Sierra, P., Marino, F., Peltzer, P., Lenardón, A., y Lorenzatti, E. 2005. Determinación de residuos de organoclorados en vertebrados silvestres del Litoral Fluvial de Argentina. *Miscelánea*. 14: 390-398.
- Lajmanovich, R. C., Attademo, A. M., Peltzer, P.M., Jungues, C. M. y Cabagna, M. 2011. Toxicity of four herbicide formulations with glyphosate on *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) tadpoles: B-esterases and Glutathione S-transferase inhibitions. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 60: 681-689.
- Lajmanovich, R. C., Peltzer, P. M., Attademo, A. M., Cabagna, M. C., y Junges, C. M. 2012. Los agroquímicos y su impacto en los anfibios: un dilema de difícil solución. *Química Viva*. 11(3): 184–198.
- Lazcano-Barrero, M. A. 1992. First record of *Bolitoglossa mulleri* (Caudata: Plethodontidae) from Mexico. *Southwestern Naturalist*. 37: 315-316.
- Lazo, S. E. 2017. Efecto del uso de agroquímicos en vertebrados silvestres. In Conference Proceedings. Universidad Técnica de Machala. Ecuador. Pp. 1140-1148.
- Lips, K. R., Reaser, J. K., Young, B. E., e Ibañez, R. 1999. El monitoreo de anfibios en América Latina. *Society for the study of amphibians and reptiles, Herpetological Circular*. 30(11): 1-115.
- López-Geta, J. A., Martínez-Navarrete, C., Moreno Merino, L. y Navarrete-Martínez, P. 1992. Las aguas subterráneas y los plaguicidas. *Instituto Geológico y minero de España*.
- Loumbourdis, N. S. y Wray, D. 1998. Heavy-metal concentration in the frog *Rana ridibunda* from a small river of Macedonia, Northern Greece. *Environment International*. 24(4): 427–431.
- Luebke, R. W., Hodson, P. V., Faisal, M., Ross, P. S., Grasman, K. A. y Zelikoff, J. 1997. Aquatic pollution-induced immunotoxicity in wildlife species. *Fundam Appl Toxicol*. 37:1–15.

- Marco, A. 2002. Contaminación global por nitrógeno y declive de anfibios. *Revista Española de Herpetología*. 5(16): 7-109.
- Mardirosian, M. N. 2015. Ecotoxicología del arsénico y mecanismos de acción en el desarrollo del anfibio *Rhinella arenarum*. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.
- Maldonado, C. G. A. 2017. Tasas de pérdida de agua por evapotranspiración en dos especies de anfibios ecuatorianos con hábitos ecológicos diferentes: *Hypsiboas cinerascens* (Anura: Hylidae) y *Pristimantis unistrigatus* (Anura: Craugastoridae). Tesis de licenciatura. Pontificia Universidad Católica Universidad Católica del Ecuador. Quito, Ecuador.
- Montes de Oca, R., Castro, E., Ramírez-Martínez, C., Naime, J. y Carabias, J. 2015. Características socioeconómicas del municipio Marqués de Comillas. En: Carabias, J., De la Maza, J. y Cadena, R. Conservación y desarrollo sustentable en la Selva Lacandona, 1ra ed. México: Natura y Ecosistemas Mexicanos A.C. Pp. 219-259.
- Moriarty, M. M., Koch, I. y Reimer, K. 2013. Arsenic species and uptake in amphibians (*Rana clamitans* and *Bufo americanus*). *Environmental Science Processes and Impacts*. 15: 1520-1528.
- Murrieta-Galindo, R., González-Romero, A., López-Barrera, F., y Parra-Olea, G. 2013. Coffee agrosystems: an important refuge for amphibians in central Veracruz, Mexico. *Agroforestry Systems*. 87(4): 767-779.
- OMS. 1982. DDT y sus derivados. Criterios de Salud Ambiental. Organización Mundial de la Salud, Ginebra. Tomado de: Lajmanovich, R., de la Sierra, P., Marino, F., Peltzer, P., Lenardón, A., y Lorenzatti, E. 2005. Determinación de residuos de organoclorados en vertebrados silvestres del Litoral Fluvial de Argentina. *Miscelánea*. 14: 390-398.

- O'Halloran, K., Ahokas, J. T. y Wright, P. F. A. 1996. In vitro responses of fish immune cells to three classes of pesticides. En: Zelikoff, J. T., Lynch, J. M. y Shepers, J. 1997. *Ecotoxicology: Responses, Biomarkers and Risk Assessment*. SOS, Fair Haven. EE. UU. Pp. 535–538.
- Parra-Olea, G., Flores-Villela, O. y Mendoza-Almeralla, C. 2014. Biodiversidad de anfibios en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 85: 460-466.
- Peltzer, P. M., Lajmanovich, R. C., Attademo, A. M., Junges, C. M., Cabagna-Zenklusen, M. C., Repetti, M. R., Sigrist, M. E. y Beldoménico, H. 2013. Effect of exposure to contaminated pond sediments on survival, development, and enzyme and blood biomarkers in veined treefrog (*Trachycephalus typhonius*) tadpoles. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 98: 142-151.
- Peréz, de C. C. S. 1994. Efectos de los metales pesados en *Bufo arenarum*. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.
- Pereira, G. 2014. Biología reproductiva, movimientos y uso de microhábitat en *Melanophryniscus montevidensis* (Anura: Bufonidae) de Uruguay. Tesis de maestría. Instituto de Ecología Ciencias Ambientales, UDELAR. Montevideo, Uruguay.
- Piha, H. 2006. Impacts of agriculture on amphibians at multiple scales. Tesis de doctorado. Facultad de Biociencias, Departamento de Ciencias Biológicas y Ambientales, Universidad de Helsinki. Finlandia, Europa.
- Procuraduría Federal de Protección al Ambiente de México. 2010. Especies en categoría de riesgo. <https://www.profepa.gob.mx>. Consultado el 16 de mayo de 2019.
- Quaranta, A., Bellantuono, V., Cassano, G. y Lippe, C. 2009. Why Amphibians Are More Sensitive than Mammals to Xenobiotics. *PLoS ONE*. 11(4): 1-4.
- Ramírez, A., León-Pérez, R. y Noriega, D. 2015. Anfibios y Reptiles de la Subcuenca del Lacantún. En: Carabias, J., De la Maza, J., y Cadena, R. 2015.

Conservación y desarrollo sustentable en la Selva Lacandona. 25 años de actividades y experiencias, México, Natura y Ecosistemas Mexicanos A.C. Pp. 177-185.

Reynoso, V. H., Paredes-León, R. y González-Hernández, A. 2011. Anfibios y reptiles de Chiapas con comentarios sobre los reportes y estudios de diversidad herpetofaunística en la región, su endemismo y conservación. En: Estudios sobre su diversidad biológica, F. Álvarez (ed.). Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. Pp. 459-509.

Ronald, J., Kendall, J., Funsch, M. y Bens, M. 1990. Use of wildlife for on-site evaluation of bioavailability and ecotoxicity of toxic substances found in hazardous waste sites. En: In situ evaluations of biological hazards of environmental pollutants. Edited by S. S. Sandhu. Plenum Press, New York.

Rodríguez, A. A., y Rodríguez, A. Y. 2015. Rasgos de la ocupación territorial en la Selva Lacandona y su entorno, desde una perspectiva demográfica. En: Carabias, L. J., De la Maza, E. J. y Cadena, R. 2015. Conservación y desarrollo sustentable en la Selva Lacandona. 25 años de actividades y experiencias, México, Natura y Ecosistemas Mexicanos A.C. Pp. 45-59.

Saavedra, G. A., López, L. D. M. y Castellanos, F. L. A. 2015. Descripción del medio físico de la cuenca media del río Usumacinta en México. En: Carabias, L. J., De la Maza, E. J. y Cadena, R. Conservación y desarrollo sustentable en la Selva Lacandona. 25 años de actividades y experiencias, México, Natura y Ecosistemas Mexicanos A.C. Pp. 19-33.

Skoog, D. A., Holler, F. J. y Crouch, S. R. 2008. Principios de análisis instrumental. 6º edición. McGraw-Hill. EE. UU. Pp. 1038.

Smalling, K. L., Reeves, R., Muths, E., Vandever, M., Battaglin, W. A., Hladik, M. L. y Pierce, C. L. 2015. Pesticide concentrations in frog tissue and wetland habitats in a landscape dominated by agriculture. *Science of the Total Environment*. 502: 80–90.

- Sosa-Aranda, A. 2015. Subcuenca del río Lacantún: medio físico y biodiversidad. En: Carabias, L. J., De la Maza, E. J. y Cadena, R. Conservación y desarrollo sustentable en la Selva Lacandona. 25 años de actividades y experiencias, México, Natura y Ecosistemas Mexicanos A.C. Pp. 76-79.
- Sparling, D. W., Bickham, J., Cowman, D., Fellers, G. M., Lacher, T., Matson, C. W., y McConnell, L. 2014. In situ effects of pesticides on amphibians in the Sierra Nevada. *Ecotoxicology*. 24(2): 262–278.
- Sygenta. 2018. Gramoxone Super. Etiqueta de uso.
- Taiwo, I. E., Henry, A. N., Imbufe, A. P. y Adetoro, O. O. 2014. Heavy metal bioaccumulation and biomarkers of oxidative stress in the wild African tiger frog, *Hoplobatrachus occipitalis*. *African Journal of Environmental Science and Technology*. 8(1): 6-15.
- Torres, D. y Capote, T. 2004. Agroquímicos un problema ambiental global: uso del análisis químico como herramienta para el monitoreo ambiental. *Ecosistemas*. 13(3): 2-6.
- Toledo, L.F., Castanho, L.M. y Haddad, C.F.B. 2005. Recognition and distribution of *Leptodactylus mystaceus* (Anura;Leptodactylidae) in the state of São Paulo, southeastern Brazil. *Biota Neotropica*. 5: 57-62.
- Todd, B. D., Bergeron, C. M. y Hopkins, W. A. 2012. Aquatic and terrestrial stressors in amphibians: a test of the double jeopardy hypothesis based on maternally and trophically derived contaminants. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 10(30): 2277-2284.
- Unrine, J. M., Hopkins, W. A., Romanek, C. S. y Jackson, B. P. 2007. Bioaccumulation of trace elements in omnivorous amphibian larvae: Implications for amphibian health and contaminant transport. *Environmental Pollution*. (149): 182-192.
- Urbina-Cardona, J. N., Olivares-Pérez, M. y Reynoso, V. H. 2006. Herpetofauna diversity and microenvironment correlates across a pasture-edge-interior

ecotone in tropical rainforest fragments in the Los Tuxtlas Biosphere Reserve of Veracruz, Mexico. *Biological Conservation*. 132: 61-75.

Valenzuela-Sánchez, A. 2012. Cambio climático: efecto sobre los anfibios. En: Soto-Azat, C y Valenzuela-Sánchez, A. 2012. Conservación de anfibios de Chile. Universidad Nacional Andrés Bello. Santiago, Chile. Pp. 42-48.

Van Meter, R. J., Glinski, D. A., Hong, T., Cyterski, M., Henderson, W. M., y Purucker, S. T. 2014. Estimating terrestrial amphibian pesticide body burden through dermal exposure. *Environmental Pollution*. 193: 262–268.

Vitt, L. J., y Caldwell, J. P. 2014. Herpetology, an introductory biology of reptiles and amphibians. 4 edition. Elsevier. EE. UU.

Waalkes, M. P., Coogan, T. P. y Barter, R. A. 1992. Toxicological principles of metal carcinogenesis with special emphasis on cadmium. *Critical Reviews in Toxicology*. 3-4 (22): 175-201.

Wagner, N., Rödder, D., Brühl, C. A., Veith, M., Lenhardt, P. P., y Lötters, S. 2014. Evaluating the risk of pesticide exposure for amphibian species listed in Annex II of the European Union Habitats Directive. *Biological Conservation*. 176, 64–70.

Young, B. E., Stuart, S. N., Chanson, J. S., Cox N. A. y Boucher, T. M. 2004. Joyas que están desapareciendo: El estado de los anfibios en el Nuevo Mundo. NatureServe, Arlington, EE. UU. Pp. 53 p

Zelikoff, J. T., Wang, W., Islam, N., Flesher, E. y Twedok, L. E. 1996. Immune response of fish as biomarkers to predict the health effects of aquatic pollution: Application of laboratory assays for field studies. En: Zelikoff, J. T., Lynch, J. M. y Shepers, J. (Eds.). *Ecotoxicology: Responses, Biomarkers and Risk Assessment*. SOS, Fair Haven, NJ, EE. UU. Pp. 263–279.

XII. ANEXOS

Anexo 1



ENTREVISTA PARA CONOCER EL USO DE CONTAMINANTES PRESENTES EN LOS EJIDOS CERCANOS A LA REBIMA y RB LACAN-TUN

Sexo:

Edad:

Fecha:

Localidad: **a)** Pico de Oro **b)** Quirigüicharo

Lugar de origen:

Ocupación:

1.- ¿Utiliza algún tipo de fertilizante, mata-monte, mata-sácate, etc.? **a)** Sí **b)** No

¿Cuáles son?:

Son de origen: **a)** mexicano o **b)** guatemalteco.

2.- ¿Qué cantidades utiliza de ellos?

3.- ¿Con qué frecuencia los usan? **a)** Antes de la siembra, **b)** durante la siembra, **c)** después de la siembra, **d)** toda la temporada hasta la cosecha.

4.- ¿A qué distancia del río se encuentra sus cultivos o terreno?

5.- ¿Dentro de la basura que usted desecha incluyen pilas, televisores viejos o cualquier otro producto electrodoméstico? **a)** Sí **b)** No **¿Cuáles?:**

6.- ¿Sabe a qué distancia del río se encuentra el basurero del pueblo?