

Enfermedades emergentes en anfibios. Estudio de prevalencia en humedales del sur de Alicante



ALUMNO: CARLOS GONZÁLEZ MUÑOZ

TUTORA: EVA GRACIÁ MARTÍNEZ

COTUTOR: JAIME BOSCH PÉREZ

**TRABAJO DE FIN DE GRADO DE CIENCIAS AMBIENTALES
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA APLICADA. ÁREA DE ECOLOGÍA
FACULTAD DE CIENCIAS EXPERIMENTALES
UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE (ALICANTE)
CURSO 2022-2023**

RESUMEN:

Los anfibios son el grupo faunístico más amenazado del planeta, siendo las enfermedades emergentes una de las principales causas del declive. Sin embargo, no todos los ambientes, ni todas las especies, muestran la misma sensibilidad frente a los patógenos, siendo que los ambientes y las especies con mortandades masivas han llamado especialmente la atención de la comunidad científica. Estos enfoques podrían limitar nuestra comprensión científica de las especies o hábitats que funcionan como reservorios, así como la evaluación precisa del impacto en aquellas especies que experimentan una disminución más sutil de sus poblaciones.

En este trabajo se llevó a cabo una revisión comparativa entre artículos científicos de enfermedades emergentes afectando a los géneros *Alytes*, (como género sensible) y *Pelophylax* (aparentemente poco sensible). Posteriormente, con el fin de aportar conocimiento científico para una especie poco estudiada en la península pese a su amplia distribución, se estudió la prevalencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*), *Batrachochytrium salamandrivorans* (*Bsal*) y de *Ranavirus* (*Rv*) en la especie *Pelophylax perezi* en los humedales El Clot de Galvany y El Hondo.

La revisión bibliográfica confirma mayor producción científica en las especies del género *Alytes* que en las de *Pelophylax*, y para *Bd* en comparación con los otros dos patógenos. Además, encontramos escasa productividad científica en relación a enfermedades emergentes en humedales y en el sur de la Península Ibérica. Por su parte, el estudio de campo permitió detectar *Bd* en El Hondo, con prevalencias relativamente altas, pero no en el Clot de Galvany. Esto sugiere la necesidad de ampliar los estudios en estos ambientes del sureste peninsular, incluyendo más especies y ampliando el enfoque hacia el estudio de las posibles consecuencias poblacionales.

Palabras clave: Enfermedades emergentes, anfibios, prevalencia, humedales, sesgo

ABSTRACT:

Amphibians are the most threatened faunal group on the planet, with emerging diseases being one of the primary drivers of their decline. However, not all environments or species exhibit the same sensitivity to pathogens. Specifically, environments and species experiencing massive die-offs have attracted significant attention from the scientific community. These focal points could constrain our scientific understanding of species or habitats that serve as reservoirs, as well as hinder accurate assessments of the impact on species undergoing more gradual population declines.

In this study, a comparative review was conducted on scientific articles concerning emerging diseases affecting the genera *Alytes* (considered sensitive) and *Pelophylax* (apparently less sensitive). Furthermore, to contribute scientific knowledge about a species that has been

understudied on the peninsula despite its wide distribution, the prevalence of *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*), *Batrachochytrium salamandrivorans* (*Bsa*), and *Ranavirus* (*Rv*) in the species *Pelophylax perezi* at the wetlands of El Clot de Galvany and El Hondo.

The literature review confirmed a greater scientific output regarding species of the *Alytes* genus compared to *Pelophylax*, and for *Bd* compared to the other two pathogens. Additionally, there was limited scientific productivity related to emerging diseases in the wetlands and in the southeastern Iberian Peninsula. On the other hand, the field study detected the presence of *Bd* in El Hondo, with relatively high prevalences, but not in Clot de Galvany. This suggests the need to expand studies in these southeastern peninsula environments, encompassing more species and broadening the focus to address potential population-level consequences.

Key words: Emerging diseases, amphibians, prevalence, wetlands, bias



Índice

Contenido

1. Introducción	5
2. Antecedentes	7
3. Objetivos	7
4. Métodos	9
4.1. Búsqueda de artículos y revisión comparativa entre los géneros <i>Pelophylax</i> y <i>Alytes</i>	9
4.1.1. Descripción del área de estudio seleccionada	9
4.1.2. Criterios de selección de artículos	9
4.2. Estudio de prevalencia de enfermedades en <i>Pelophylax perezii</i>	12
4.2.1. Área de estudio seleccionada y puntos de muestreo	12
4.2.2. Muestreos y procedimientos	16
4.2.3. Procedimiento en el laboratorio	17
5. Resultados	18
5.1. Comparación entre producción de artículos sobre <i>Pelophylax sp.</i> y <i>Alytes sp.</i>	18
5.1.1. Especies presentes en los artículos revisados.....	21
5.1.2. Ambientes en los que se desarrollan los artículos	22
5.2. Resultados de los análisis de las muestras.....	22
5.2.1. Características de las zonas muestreadas y resultados	22
6. Discusión	27
7. Conclusiones.....	30
8. Proyección futura	30
9. Agradecimientos	31
10. Bibliografía	32

1. Introducción

Una definición sencilla de lo que es una enfermedad infecciosa emergente consiste en afirmar que es la provocada por un agente infeccioso recientemente identificado y anteriormente desconocido, capaz de causar problemas de salud a nivel local, regional o mundial (Oromí Durich 2000). En la naturaleza, los cambios en el medio ambiente pueden dar lugar a modificaciones entre las dinámicas huéspedes y patógenos, lo que da pie a la aparición de estas enfermedades (Martínez-Silvestre et al. 2021). Una de las características más llamativas de estas enfermedades es la variabilidad en la respuesta a la infección. Esta variabilidad depende de factores ecológicos y evolutivos presentes en la dinámica patógeno-huésped, por lo que su comprensión es de gran importancia en la aplicación de medidas de conservación para la prevención de futuros declives en la biodiversidad (Delia Basanta 2019). Teniendo en cuenta esta información, podemos afirmar que las enfermedades infecciosas emergentes son amenazas importantes a la biodiversidad (Hangartner y Laurila 2012). Estas enfermedades son una de las principales amenazas de los anfibios, ya que éstos son particularmente vulnerables a las perturbaciones ambientales debido a su ecología (la mayoría necesitan hábitats acuáticos y terrestres) y la fisiología de su piel (Costa et al. 2016). De hecho, la UICN en 2009 afirmó que más de la mitad de los anfibios europeos (59 %) están en disminución, y para el 23 % de los anfibios y el 21 % de los reptiles la situación es tan grave, que están clasificados como especies amenazadas en la Lista Roja Europea. Precisamente por este motivo, se han establecido proyectos y programas de monitoreo para combatir y concienciar sobre estas enfermedades. Un ejemplo de estos proyectos, planteado para luchar contra las enfermedades emergentes de los anfibios en España, es SOSanfibios (www.sosanfibios.org) de la Asociación Herpetológica Española (AHE). En este proyecto colaboran ONGs, asociaciones, grupos de investigación y otras entidades gubernamentales relacionadas con la protección de la naturaleza (Bosch Pérez, comentario personal). Tanto la asociación como los colaboradores recogen muestras a nivel nacional, habiendo analizado 8.065 anfibios, en su mayoría salvajes, durante el periodo 2019-2022. Todos los datos que recogen son publicados para que esta información esté disponible para todo el mundo.

Los problemas de los anfibios han sido, desde hace mucho tiempo, un indicador del estado de salud de los ecosistemas, considerando este grupo animal como bioindicadores de las áreas naturales (Martínez-Silvestre et al. 2021). Es por este motivo, que la disminución global de anfibios es un tema importante en cuanto a la conservación y la pérdida de biodiversidad (Costa et al. 2016). Estos animales, a lo largo

de los años han sufrido distintas amenazas como puede ser las pérdidas en cantidad y calidad de hábitats disponibles, el exceso de nutrientes en el agua, el descenso de la concentración de oxígeno, la disminución de invertebrados o la introducción de especies no nativas de peces (Speybroeck et al. 2017). También se han visto afectados por la fragmentación en hábitats más pequeños o la creación de carreteras que actúan como barreras y han supuesto un problema para estos animales (Speybroeck et al. 2017). Sin embargo, es cada vez más evidente que entre las mayores amenazas para los anfibios se encuentran también las enfermedades infecciosas emergentes.

Las principales enfermedades emergentes que afectan a los anfibios, y en las que se va a centrar este trabajo, serán la quitridiomycosis, causada por los hongos *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) y *Batrachochytrium salamandrivorans* (*Bsal*) y las causadas por el virus del género *Ranavirus* (*Rv*) (Martínez-Silvestre et al. 2022). Estos patógenos pueden transmitirse a través de diversas vías como son el comercio internacional de anfibios, introducción de anfibios alóctonos en ambientes naturales o la contaminación con esporas de sistemas de agua dulce por medio de desagües (Medina-Vogel 2010). Estos hongos tienen mucho éxito por diversos motivos. Entre ellos, que ambos requieren un medio acuático o húmedo para comenzar la etapa de infección, por lo que afecta mucho a especies con reproducción acuática. (Delia Basanta 2019). Otro motivo es el hecho de que los causantes de estas enfermedades son patógenos multi-huésped, que generalmente son mejores invasores y tienen conjuntos más diversos de huéspedes susceptibles y tasas más altas de transmisión entre especies huésped, por lo que pueden llevar a disminuciones severas o incluso la extinción de especies. (Kärverno et al. 2018). Este trabajo no abordará otras enfermedades que, aunque no sean tan agresivas, también deben mencionarse como la Salmonella y la Clamidia, que son zoonosis; u otras enfermedades que pueden ser transmitidas entre otros grupos de vertebrados como son los reptiles o los mamíferos (Trematodos, *Dermoscistidium*...) (Martínez-Silvestre et al. 2022).

Para cada una de las enfermedades mencionadas en el párrafo anterior, es posible encontrar especies que presenten diferentes niveles de sensibilidad o resistencia. Esto se debe a la especificidad de la enfermedad y a la biología del hospedador. Por ejemplo, *Bsal* no tiene un impacto muy elevado sobre los sapos parteros del género *Alytes*, mientras que para especies como *Salamandra salamandra* este hongo es mucho más agresivo (Martel et al. 2013). Sin embargo, los sapos parteros son probablemente el género más sensible en Europa a *Bd* (Loongore et al. 1999). Otras especies, como las ranas verdes del género *Pelophylax sp.* son mucho más resistentes, pero pueden ser potencialmente portadoras de estas enfermedades (Baláž et al. 2014,).

En este sentido, resulta fundamental conocer la prevalencia de esta enfermedad en especies que no presentan mortalidades significativas, ya que podrían desempeñar un papel crucial como reservorios. Sin embargo, la producción científica podría ser limitada en especies que no muestran picos de mortalidad llamativos. Respecto al *Rv*, su detección temprana y su seguimiento también es importante ya que puede afectar a larvas y anfibios posmetamórficos, e impactar con rasgos relacionados con la condición física, como el crecimiento y el desarrollo (Brunner et al. 2015).

En este trabajo de fin de grado se ha llevado a cabo una revisión de artículos científicos, desarrollados en la región paleártica, comparando la producción científica en cuanto a enfermedades emergentes para especies sensibles y poco sensibles. Concretamente, se han comparado los artículos publicados para el género *Pelophylax* (en general poco sensible a *Bd*) y el género *Alytes* (en general muy sensible a *Bd*) para evaluar el conocimiento aportado en cuanto a prevalencias, fatalidad, zonas de estudios y hábitats. Además, se ha contribuido al conocimiento de las prevalencias de *Bd*, *Bsal* y *Rv* en ranas *Pelophylax perezi* en humedales del sur de Alicante (concretamente en El Hondo y el Clot de Galvany). También se incluyeron en el estudio muestras de hallazgos fortuitos en la Sierra de Crevillente-Elche y el Río Safari de Elche.

2. Antecedentes

Uno de los objetivos generales del trabajo es el de aportar información sobre prevalencias de *Bd*, *Bs* y *Rv* para *Pelophylax perezi* en el sur de Alicante. Para ello, ha sido necesaria realizar un trabajo de campo para la obtención de diversas muestras. Este trabajo de campo ha sido realizado desde cero sin recibir ningún dato previo, sin embargo, las pruebas obtenidas durante los muestreos se enviarán al proyecto SOSanfibios, y los resultados servirán para nutrir el proyecto. SOSanfibios, como se menciona en la introducción, es un proyecto planteado para luchar contra las enfermedades emergentes de los anfibios en España. Los análisis de laboratorio necesarios para obtener los resultados también estarán cubiertos por este proyecto.

3. Objetivos

La finalidad de este trabajo es hacer una revisión comparativa de los artículos científicos que abordan uno de los géneros de anfibios más distribuidos por el Paleártico, el género *Pelophylax*, generalmente poco sensibles a las enfermedades emergentes,

frente a los publicados para el género *Alytes*, muy sensible. Los artículos que se utilicen serán aquellos que se hayan desarrollado en la región del Paleártico y se valorarán aspectos como la prevalencia de distintas enfermedades emergentes, y los ambientes en donde se desarrollan.

Además, este trabajo pretende aportar información sobre aspectos en los que se hayan detectado carencias. Concretamente, se han desarrollado muestreos y análisis de *Pelophylax perezi* en El Clot de Galvany, El Hondo y la Sierra de Crevillente-Elche (La Peña de las Águilas) para estudiar así la prevalencia de las enfermedades emergentes en humedales del sureste peninsular.

Los objetivos específicos son:

- Comparar las revisiones científicas de *Pelophylax sp.* y de *Alytes sp.* para así identificar sesgos en relación a la producción científica sobre enfermedades emergentes.
- Estimar la prevalencia de *Batrachochytrium dendrobatidis (Bd)*, *Batrachochytrium salamandrivorans (Bsal)* y de *Ranavirus (Rv)* en la especie *Pelophylax perezi* en los humedales El Clot de Galvany y El Hondo.



4. Métodos

4.1. Búsqueda de artículos y revisión comparativa entre los géneros *Pelophylax* y *Alytes*

4.1.1. Descripción del área de estudio seleccionada

Para la revisión se han realizado distintas búsquedas de artículos sobre estudios desarrollados en el Paleártico Occidental (Figura 1), que abarca toda Europa, parte de Asia y el norte de África. En Europa, hay una gran variabilidad geográfica, por lo que un gran número de especies de anfibios y reptiles habitan el continente. La mayor parte de las especies de Europa se encuentran en la zona centro, la Península Ibérica e Italia. La razón más obvia del gran número de especies de anfibios es el elevado nivel de variación ambiental y de ambientes que han contribuido a su diversificación (Speybroeck et al. 2017). Respecto al norte de África, hay vastas extensiones verdes y oasis con gran cantidad y abundancia de anfibios, entre los que encontramos 32 especies, de las cuales, 4 están presentes en la península ibérica y otras 5 tienen especies del mismo género a ambos lados del estrecho (González y Martínez del Mármol, 2021).

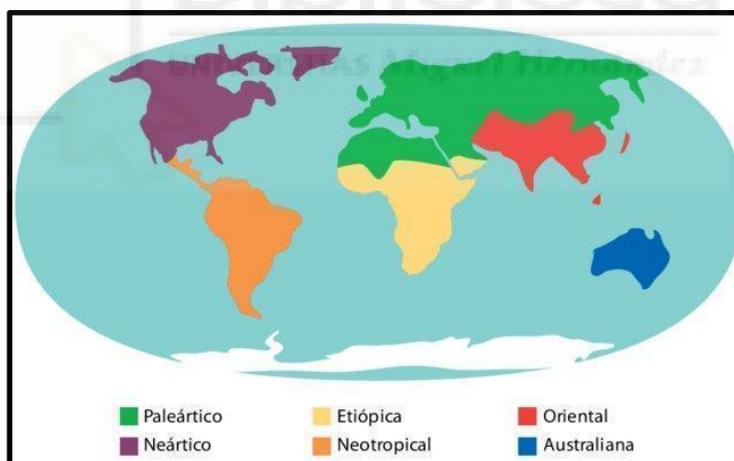


Figura 1: Mapa de las regiones biogeográficas del mundo (Tomado de Mello et al. 2012). La zona verde, la región del Paleártico, es de donde se han seleccionado los estudios para la revisión.

4.1.2. Criterios de selección de artículos

Para realizar las búsquedas necesarias (Tabla 1) para la revisión se ha utilizado la plataforma Scopus (www.scopus.com). Esta plataforma es una base de datos de referencias bibliográficas, resúmenes, citas y autores de diversas publicaciones, revisadas por pares y elaboradas por expertos e investigadores reconocidos en sus respectivos campos. Contiene información bibliográfica, en muchos casos a texto

completo, de más de 25.100 revistas científicas y más de 5.000 editoriales de todo el mundo, de diferentes áreas del conocimiento (ciencia y tecnología, medicina, ciencias sociales, artes y humanidades). Aunque contiene registros que se remontan a 1788, la información sobre citas comienza en 1970. Esta plataforma fue lanzada en 2004 y está asistida por Elsevier, una empresa de análisis de datos global que asiste a instituciones y profesionales (Scopus Info, www.elsevier.com/solutions/scopus).

Se han realizado búsquedas sobre el género *Pelophylax*, un género a priori poco sensible a las enfermedades vistas hasta el momento y sobre el género *Alytes*, del que se ha observado una gran sensibilidad a estas enfermedades. En las búsquedas realizadas, se ha tratado de relacionar ambos géneros con las principales enfermedades emergentes como se puede observar en la Tabla 1.

Tabla 1. Términos utilizados para hacer las búsquedas a través de la plataforma de Scopus.

Término de búsqueda
<i>Batrachochytrium dendrobatidis</i>
<i>Batrachochytrium salamandrivorans</i>
<i>Ranavirus</i>
<i>Pelophylax</i> + " <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> "
<i>Pelophylax</i> + " <i>Batrachochytrium salamandrivorans</i> "
<i>Pelophylax</i> + <i>Ranavirus</i>
" <i>Pelophylax perezii</i> " + disease
" <i>Pelophylax bedriagae</i> " + disease
" <i>Pelophylax bergeri</i> " + disease
" <i>Pelophylax cerigensis</i> " + disease
" <i>Pelophylax cretensis</i> " + disease
" <i>Pelophylax cypriensis</i> " + disease
" <i>Pelophylax demarchii</i> " + disease
" <i>Rana demarchii</i> " + disease
" <i>Pelophylax epeiroticus</i> " + disease
" <i>Pelophylax kurtmuelleri</i> " + disease
" <i>Pelophylax lessonae</i> " + disease
" <i>Pelophylax ridibundus</i> " + disease

" <i>Pelophylax saharicus</i> " + disease
" <i>Pelophylax shqipericus</i> " + disease
" <i>Pelophylax terentiev</i> " + disease
" <i>Pelophylax chosenicus</i> " + disease
" <i>Pelophylax fukienensis</i> " + disease
" <i>Pelophylax hubeiensis</i> " + disease
" <i>Pelophylax lateralis</i> " + disease
" <i>Pelophylax plancy</i> " + disease
" <i>Pelophylax tenggerensis</i> " + disease
<i>Alytes</i> + " <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> "
<i>Alytes</i> + " <i>Batrachochytrium salamandrivorans</i> "
<i>Alytes</i> + " <i>Ranavirus</i> "
" <i>Alytes obstetricans</i> " + disease
" <i>Alytes almogavarii</i> " + disease
" <i>Alytes maurus</i> " + disease
" <i>Alytes dickhilleni</i> " + disease
" <i>Alytes mulletensis</i> " + disease
" <i>Alytes cisternasii</i> " + disease
" <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> " + wetlands
" <i>Batrachochytrium salamandrivorans</i> " + wetlands
<i>Ranavirus</i> + wetlands

Aparte de los artículos seleccionados en Scopus, también se han tenido en cuenta 16 artículos importantes, proporcionados por el cotutor de este proyecto, que no se encuentran presentes en esta plataforma y tienen una gran relevancia en cuanto a las enfermedades emergentes.

De los resultados obtenidos (RT), se filtraron aquellos para la región Paleártico (RP) y de éstos, se consideraron resultados útiles (RU) aquellas publicaciones en las que se estudiaban enfermedades infecciosas emergentes para los géneros *Pelophylax* o *Alytes*. Es decir, se descartaron aquellos trabajos que realmente no versaban sobre

enfermedades infecciosas, sino sobre otros temas como los relacionados con la fisiología o la demografía.

Para ello se revisaron otros factores a tener en cuenta en cada uno de los artículos como la región donde se ha realizado el estudio, el tipo de hábitat, las especies y las enfermedades estudiadas y la prevalencia de cada una de estas. De esta forma se ha pretendido obtener los máximos detalles posibles de cada estudio.

Para reflejar los datos obtenidos (tanto de los artículos de Scopus como de los proporcionados por el cotutor) y poder hacer un mejor análisis de la revisión bibliográfica se han realizado varias tablas dinámicas en Excel y se han utilizado los paquetes dplyr y ggplot2 en R (R Core Team, 2023) para mostrar los resultados obtenidos mediante un gráfico de barras.

4.2. Estudio de prevalencia de enfermedades en *Pelophylax perezii*

4.2.1. Área de estudio seleccionada y puntos de muestreo

Para el estudio en campo de la presencia de *Bd*, *Bsal* y *Rv* en *Pelophylax perezii*, se realizaron muestreos en El Hondo y el Clot de Galvany, dos humedales del sur de la provincia de Alicante. También se obtuvieron muestras de hallazgos casuales en la Sierra de Crevillente-Elche (La Peña de las Águilas) y en el Río Safari de Elche (Figura 2).

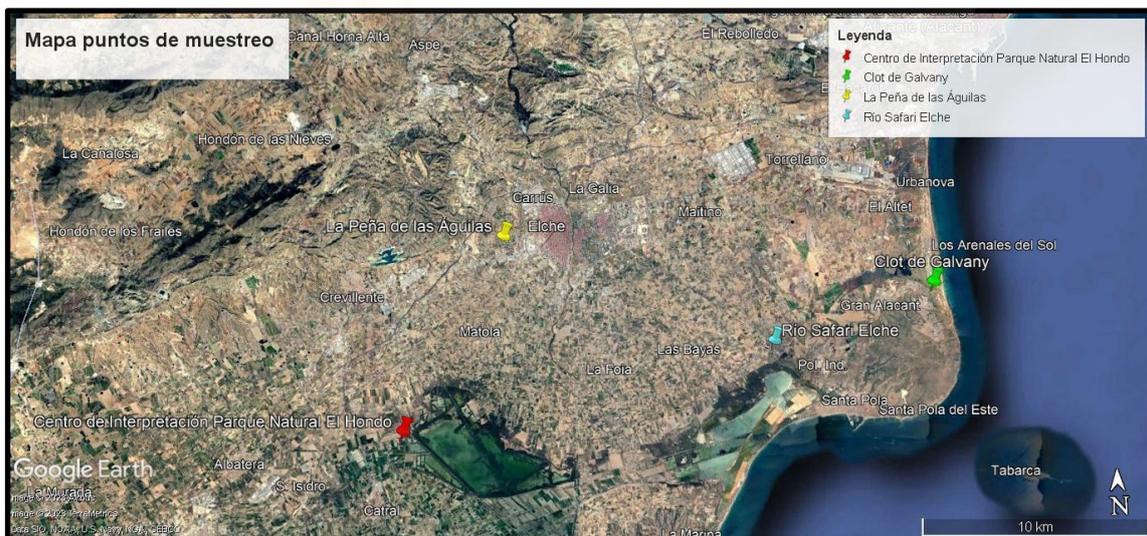


Figura 2. Mapa extraído con Google Earth de los humedales que han sido muestreados durante el apartado de campo de este trabajo.

Con el objetivo de describir las comunidades de anfibios presentes en cada lugar de muestreo se consultó la base de datos del SIARE (Servidor de Información de

Anfibios y Reptiles de España), que recoge información del SARE (Seguimiento de Anfibios y Reptiles de España), la BDH (Base de Datos Herpetológica) y el AHEnuario para dar como resultado las especies que han sido citadas en cuadrículas de 10x10 km.

Clot de Galvany

El Clot de Galvany es un Paraje Natural Municipal situado en las partidas rurales de El Altet y Los Balsares dentro del término municipal de Elche, Alicante. Dado su gran valor ambiental ha sido declarado además de Paraje Natural Municipal, Estación Biológica, Lugar de Interés Comunitario (LIC) y Zona de Especial Protección para las Aves (ZEPA) en buena parte de su superficie (Concejalía de Medio ambiente del Ayuntamiento de Elche, s.f.). La Estación de Depuración de Aguas Residuales (E.D.A.R.) de los Arenales, con tratamiento terciario, nutre de agua al paraje en la actualidad.



Figura 3. Cuadrícula UTM 10x10 km donde se encuentra El Clot de Galvany (YH13).

La comunidad de anfibios en esta cuadrícula (Figura 3) comprende *Epidalea calamita* (Sapo corredor), *Pelobates cultripipes* (Sapo de espuelas), *Pelophylax perezi* (Rana común), *Pelodytes punctatus* (Sapillo moteado) (SIARE). La especie con más registros en esta zona ha sido *Epidalea calamita*, mientras que *Pelophylax perezi* es la segunda especie más vista.

El Hondo

El Hondo es un humedal antropizado de elevado valor ecológico que se sitúa en la antigua albufera de Elche en la comarca del Baix Vinalopó (Elche y Crevillente), al sur de la provincia de Alicante (38° 12' N; 0° 42' W). Comprende dos embalses reguladores de riego, lagunas naturales y otros encharcamientos. (Luis Echevarría 2003). La mayor

parte de su aporte hídrico procede de aportes de sobrantes del río Segura y de los azarbes de la Vega Baja, que se toman mediante elevaciones artificiales (Abellán Contreras 2019). Es paraje natural desde 1988 y fue declarado parque natural por la Generalitat Valenciana en 1994. Además, figura en los listados del RAMSAR y 7 está clasificado como ZEPA (Zona de Especial Protección para las Aves) (Conselleria d'Agricultura, Medi Ambient, Canvi Climàtic i Desenvolupament Rural, s.f.).

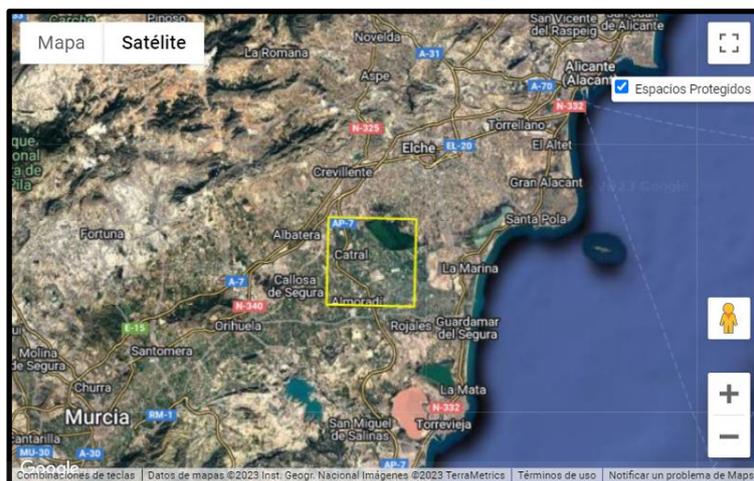


Figura 4. Cuadrícula UTM 10x10 km donde se encuentra El Hondo (XH92).

Respecto a los anfibios que encontramos en esta cuadrícula (Figura 4), se han observado las especies: *Epidalea calamita* (Sapo corredor), *Bufo spinosus* (Sapo común), *Pelobates cultripes* (Sapo de espuelas), *Pelophylax perezi* (Rana común) y *Pelodytes punctatus* (Sapillo moteado) (SIARE).

Muestras casuales

Aunque el objetivo principal del estudio es el muestreo de los humedales, también se tomaron algunas muestras obtenidas por terceras personas, como la tutora del trabajo o los trabajadores del Río Safari de Elche. Estas muestras fueron tomadas en las siguientes ubicaciones:

La Peña de las Águilas

La Sierra de Crevillente, donde se encuentra La Peña de las Águilas, se extiende de suroeste a noreste con una extensión de unos 25 km entre el río Vinalopó y la Sierra de Abanilla, por los términos de Crevillent, Hondón de las Nieves, Hondón de los Frailes, Albatera y Aspe. Esta sierra posee tres microrreservas de flora protegidas por la

Generalitat Valenciana. Además, la Sierra de Crevillent formó parte de los 39 lugares de Interés Comunitario (LIC) susceptibles de formar parte, en su caso, de la Red Natura 2000 (Miralles Cantó 2018).



Figura 5. Cuadrícula UTM 10x10 km muestreada en La Peña de las Águilas (XH93).

En función de las citas registradas en la cuadrícula (Figura 5) la comunidad de anfibios de la Sierra de Crevillente comprende las siguientes especies: *Epidalea calamita* (Sapo corredor), *Bufo spinosus* (Sapo común ibérico), *Pelobates cultripes* (Sapo de espuelas), *Pelophylax perezi* (Rana común), *Pelodytes punctatus* (Sapillo moteado), *Triturus pygmaeus* (Tritón pigmeo, especie introducida; Sancho et al., 2015). Las especies con más citas han sido *Pelophylax perezi* y *Epidalea calamita*, igualadas en citas.

Río Safari Elche

Río Safari es un parque zoológico desde 1983, que consta de más de 12 hectáreas. Se encuentra ubicado a 9 km de Elche, siendo un centro que avanza día a día en la restauración de sus instalaciones y se implica cada vez en más proyectos de conservación ex-situ (www.riosafari.com).

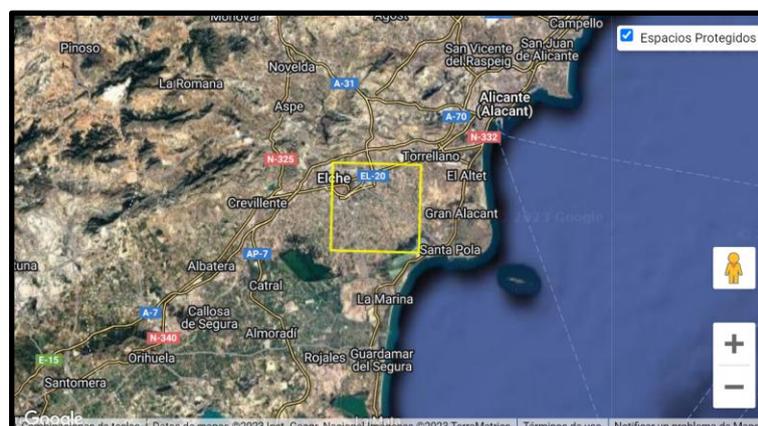


Figura 6. Cuadrícula UTM 10x10 km en donde se encuentra el Río Safari (YH03).

No se ha observado un número muy elevado de especies de anfibios en esta cuadrícula (Figura 6), pudiendo encontrar tan solo *Bufo spinosus* (Sapo común ibérico) y *Pelophylax perezi* (Rana común). La especie más abundante, con un número considerablemente superior de citas en la zona ha sido *Pelophylax perezi*.

4.2.2. Muestreos y procedimientos

Los materiales necesarios para realizar el trabajo de campo fueron:

- Salabres.
- Hisopos
- Tubos de ensayo Eppendorf
- Papel film
- Etanol 70%, para la conservación de muestras

Se utilizó un salabre para coger las ranas. Cada uno de los emplazamientos fue muestreado por dos personas en cada visita y requirió esfuerzo distinto según la dificultad para obtener muestras (Tabla 2). La mayor parte de las visitas fueron de noche, cuando las ranas presentan mayor actividad. En este sentido, se aprovecharon los días de lluvia de mayo.

Tabla 2. Número de visitas y tiempo necesitado para los muestreos en cada uno de los emplazamientos.

Zonas muestreadas	Nº de visitas	Tiempo medio por visita
El Hondo	2	4 horas
El Clot de Galvany	5	4 horas
La Peña de las Águilas	Encuentro fortuito	Encuentro fortuito
Río Safari Elche	Encuentro fortuito	Encuentro fortuito

Una vez capturado el individuo a analizar se pasó un hisopo por la piel (Figuras 7 y 8). Posteriormente, se introdujo el hisopo dentro de un tubo de 1,5ml y se rompió, dejando la punta del hisopo dentro. Se vertieron 1 o 2 gotas de etanol al 70% en el tubo con el fin de conservar la muestra (Figura 9), y se cerró. Tras esto, solo quedó etiquetar la muestra y sellar con papel film. Ya selladas, se conservaron en congelador (aunque es posible mantenerlas a temperatura ambiente).



*Figuras 7 y 8. Frotis de la piel de un individuo de *Pelophylax perezii* con un hisopo.*



Figura 9. Adición de etanol 70% al Eppendorf para la conservación de la muestra.

4.2.3. Procedimiento en el laboratorio

En colaboración con SOSanfibios, las muestras se enviaron al laboratorio donde fueron analizadas por la asociación. Para el análisis de las muestras se realizó una PCR cuantitativa. La alta sensibilidad de la PCR hace que esta sea la técnica más adecuada de detección de patógenos en anfibios, sobre todo cuando la enfermedad aún no ha cursado y no pueden observarse signos externos (Bosch Pérez 2023).

En la PCR se siguieron varios pasos. El ADN se extrajo usando PrepMan Ultra, fueron diluidas 1:10 antes de una amplificación por qPCR (PCR en tiempo real). Las muestras se analizaron por duplicado, usando controles negativos y positivos (con concentraciones conocidas de 0,1, 1, 10 y 100 equivalentes genómicos de zoosporas). Las muestras fueron consideradas positivas cuando la carga de infección fue igual o superior a 0,1 y la curva de amplificación presentó una forma sigmoidea robusta. Cuando sólo se amplificó con éxito una réplica de una muestra, la muestra se analizó por tercera vez y se consideró positiva si la tercera amplificación resultó en un resultado positivo (Thumsová 2022).

5. Resultados

5.1. Comparación entre producción de artículos sobre *Pelophylax sp.* y *Alytes sp.*

La producción científica en Scopus para *Bd* es mayor que para *Bsal* o *Rv*. Como muestra la Tabla 3, los términos de búsqueda "*Batrachochytrium dendrobatidis*" "*Batrachochytrium salamandrivorans*" y "*Ranavirus*" produjeron un total de 2898 resultados (suma directa).

En cuanto a los géneros estudiados, 42 resultados incluyeron alguno de los patógenos y el término "*Pelophylax*", mientras que 74 incluyeron alguno de los patógenos y el término "*Alytes*". Respecto a las especies más estudiadas, *Alytes obstetricans* es la más estudiada para el género *Alytes* con 55 resultados, mientras que *Pelophylax ridibundus* es la más estudiada para el género *Pelophylax* con 13.

En la Península Ibérica, sólo encontramos 4 artículos para la especie "*Pelophylax perezii*", única representativa del género. Uno de ellos fue realizado en Portugal, mientras que los otros 3 se realizaron en el norte de la Península Ibérica. Respecto al género *Alytes*, en la Península Ibérica se encontraron 15 estudios, sólo 2 de ellos en el sureste.

Tabla 3. Búsquedas realizadas en Scopus, mostrando el número de resultados totales que se ha encontrado por búsqueda (RT), el número de resultados en la región del Paleártico (RP) y los resultados en la región del Paleártico que pueden resultar útiles para la revisión (RU).

Término de búsqueda	RT	RP	RU
<i>Batrachochytrium dendrobatidis</i>	1809	312	
<i>Batrachochytrium salamandrivorans</i>	206	122	
<i>Ranavirus</i>	883	178	
<i>Pelophylax</i> + " <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> "	26	19	15
<i>Pelophylax</i> + " <i>Batrachochytrium salamandrivorans</i> "	1	1	1
<i>Pelophylax</i> + <i>Ranavirus</i>	15	7	3
" <i>Pelophylax perezii</i> " + disease	4	4	2
" <i>Pelophylax bedriagae</i> " + disease	3	3	3

" <i>Pelophylax bergeri</i> " + disease	0	0	0
" <i>Pelophylax cerigensis</i> " + disease	0	0	0
" <i>Pelophylax cretensis</i> " + disease	0	0	0
" <i>Pelophylax cypriensis</i> " + disease	0	0	0
" <i>Pelophylax demarchii</i> " + disease	0	0	0
" <i>Rana demarchii</i> " + disease	0	0	0
" <i>Pelophylax epeiroticus</i> " + disease	0	0	0
" <i>Pelophylax kurtmuelleri</i> " + disease	0	0	0
" <i>Pelophylax lessonae</i> " + disease	8	7	5
" <i>Pelophylax ridibundus</i> " + disease	13	12	6
" <i>Pelophylax saharicus</i> " + disease	2	2	0
" <i>Pelophylax shqipericus</i> " + disease	0	0	0
" <i>Pelophylax terentievi</i> " + disease	0	0	0
" <i>Pelophylax chosenicus</i> " + disease	1	1	0
" <i>Pelophylax fukienensis</i> " + disease	0	0	0
" <i>Pelophylax hubeiensis</i> " + disease	0	0	0
" <i>Pelophylax lateralis</i> " + disease	0	0	0
" <i>Pelophylax plancyi</i> " + disease	0	0	0
" <i>Pelophylax tenggerensis</i> " + disease	0	0	0
<i>Alytes</i> + " <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> "	58	47	29
<i>Alytes</i> + " <i>Batrachochytrium salamandrivorans</i> "	5	5	2
<i>Alytes</i> + " <i>Ranavirus</i> "	11	7	3
" <i>Alytes obstetricans</i> " + disease	55	41	25

" <i>Alytes almogavarii</i> " + disease	0	0	0
" <i>Alytes maurus</i> " + disease	1	1	1
" <i>Alytes dickhilleni</i> " + disease	3	3	2
" <i>Alytes mulletensis</i> " + disease	0	0	0
" <i>Alytes cisternasi</i> " + disease	1	1	1
" <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> " + wetlands	49	7	1
" <i>Batrachochytrium salamandrivorans</i> " + wetlands	0	0	0
<i>Ranavirus</i> + wetlands	1	0	0

También se han tenido en cuenta 16 artículos proporcionados por el cotutor del trabajo, que no se han encontrado en Scopus. De estos, 10 cumplían con los criterios para ser RU. Algunas características de estos últimos 10 artículos están descritas en la Tabla 4, donde de los artículos que se han desarrollado en la Península Ibérica, sólo 1 ha sido en el sureste.

Tabla 4. Artículos útiles (no incluidos en Scopus) proporcionados por el cotutor de este proyecto.

Especies analizadas	Nº Artículos útiles	Artículos desarrollados en la Península Ibérica
<i>Alytes</i> sp.	3	2
<i>Pelophylax</i> sp.	4	3
Ambas	3	3

Para tener una visión más clara de en cuántos artículos se analizan especies pertenecientes al género *Pelophylax*, *Alytes* o a ambas especies se ha realizado un gráfico de barras (Figura 10) en el que se incluyen los 74 RU detectados en esta revisión (incluyendo Scopus y los aportados por el cotutor del TFG).

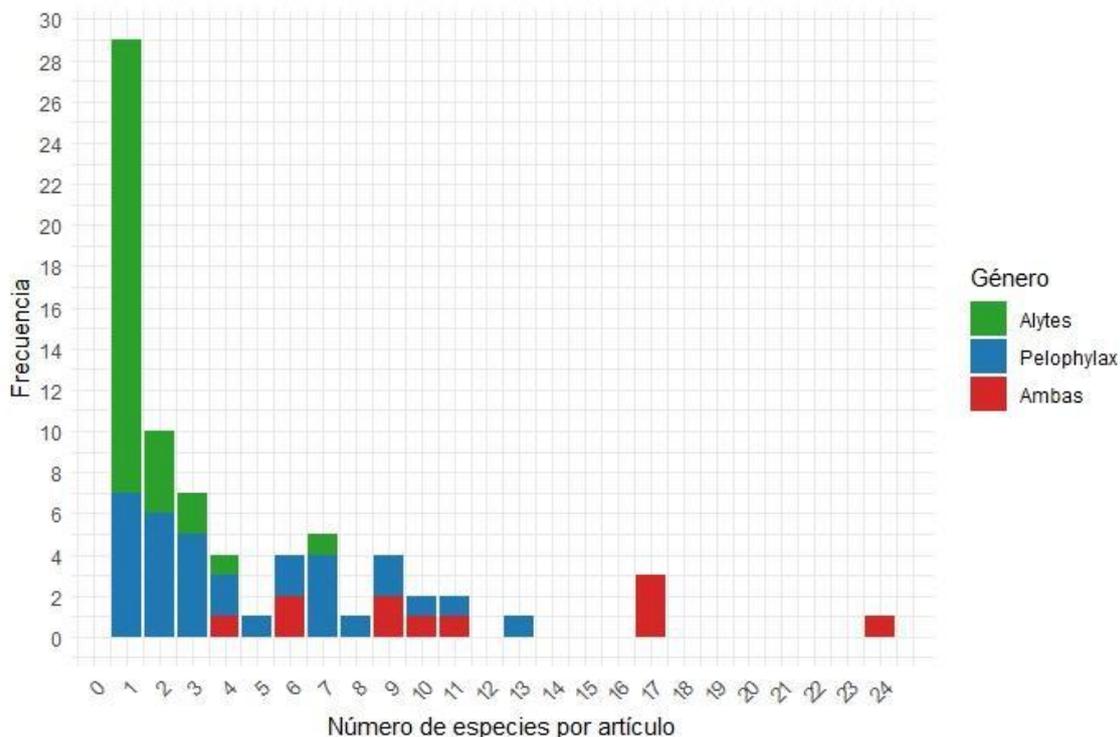


Figura 10. Diagrama de barras en el que se representan las especies que se estudian en cada uno de los 74 artículos que se han considerado RU durante la revisión bibliográfica. Se puede observar cuántos pertenecen al género *Pelophylax*, *Alytes* y cuántos incluyen ambas especies.

Las referencias específicas de los 74 RU se incluyen en las Tablas 1 y 2 del Anexo.

5.1.1. Especies presentes en los artículos revisados

Las especies del género *Pelophylax* que se encontraron en los artículos fueron las siguientes: *Pelophylax bedriagae*, *Pelophylax caralitanus*, *Pelophylax cerigensis*, *Pelophylax epeiroticus*, *Pelophylax esculentus*, *Pelophylax lessonae*, *Pelophylax perezii*, *Pelophylax ridibundus* y *Pelophylax saharicus*.

Del género *Alytes* se encontraron las siguientes: *Alytes obstetricans*, *Alytes maurus*, *Alytes cisternasii*.

Aunque el trabajo se centra en las especies pertenecientes al género *Pelophylax* y el género *Alytes*, también es importante mencionar el resto de especies encontradas. Concretamente, se han encontrado otras 39 especies de anfibios de los siguientes géneros: *Barbarophryne*, *Bombina*, *Bufo*, *Bufotes*, *Discoglossus*, *Epidalea*, *Hyla*, *Latonia*, *Lissotriton*, *Lyciasalamandra*, *Pelobates*, *Pseudepidalea*, *Rana*, *Salamandra*, *Sclerophrys* y *Triturus*; y dos especies de reptiles: *Natrix maura* y *Podarcis bocagei*.

5.1.2. Ambientes en los que se desarrollan los artículos

De los 74 resultados útiles considerados en esta revisión (Scopus y los obtenidos por el cotutor), 61 describieron los ambientes donde se realizaron los estudios. La mayoría de los artículos se desarrollaron en sierras (26 artículos) y en ríos, charcas o canales (21). En 5 de ellos, se analizaron ambos ambientes en el mismo artículo. Finalmente, 7 tomaron las muestras en sistemas de humedales, y en 2 en individuos en cautividad.

5.2. Resultados de los análisis de las muestras

5.2.1. Características de las zonas muestreadas y resultados

En la Tabla 4 se muestran las características de los puntos en los que se obtuvo muestra y el número de muestras por sitio muestreado.

Tabla 4. Coordenadas y breve descripción de los puntos donde se han tomado las muestras.

Zonas muestreadas	Coordenadas	Tipo de ambiente
El Hondo	38°11'13.42"N 0°47'21.97"O	Pequeño estanque con presencia de especies exóticas invasoras
	38°11'10.63"N 0°47'16.75"O	Charca de gran tamaño
	38°11'8.48"N 0°47'7.46"O	Zona calmada en canal de agua
El clot de Galvany	38°14'34.82"N 0°31'43.62"O	Charca de gran tamaño
	38°14'32.11"N 0°31'35.95"O	Charca de gran tamaño
	38°14'33.68"N 0°31'31.26"O	Camino cerca de charca

	38°14'47.20"N 0°31'48.49"O	Charca de gran tamaño
La Peña de las Águilas	38°16'34.69"N 0°45'8.83"O	Balsa abandonada
	38°15'53.84"N 0°44'27.34"O	Estanque con presencia de especies exóticas invasoras
Río Safari Elche	38°13'3.66"N 0°36'7.38"O	Fuente

En la Tabla 5 se pueden ver las prevalencias de las muestras analizadas. La muestra con una menor carga corresponde al 0,1 equivalentes genómicos de zoosporas mientras que una de las muestras tiene una carga de hasta 558,5.

Los únicos positivos han correspondido a la enfermedad Bd, es decir, no hay ningún individuo infectado de *Bsal* o *Rv*. Respecto a las prevalencias de Bd, en El Hondo se han detectado 6 positivos de 12 muestras analizadas y en el Río Safari de Elche se ha detectado 1 de 2 (Figura 11). En las muestras obtenidas en el Hondo y en la Sierra de Crevillente-Elche (La Peña de las Águilas), sin embargo, no ha habido ningún caso positivo para ninguna de las enfermedades.

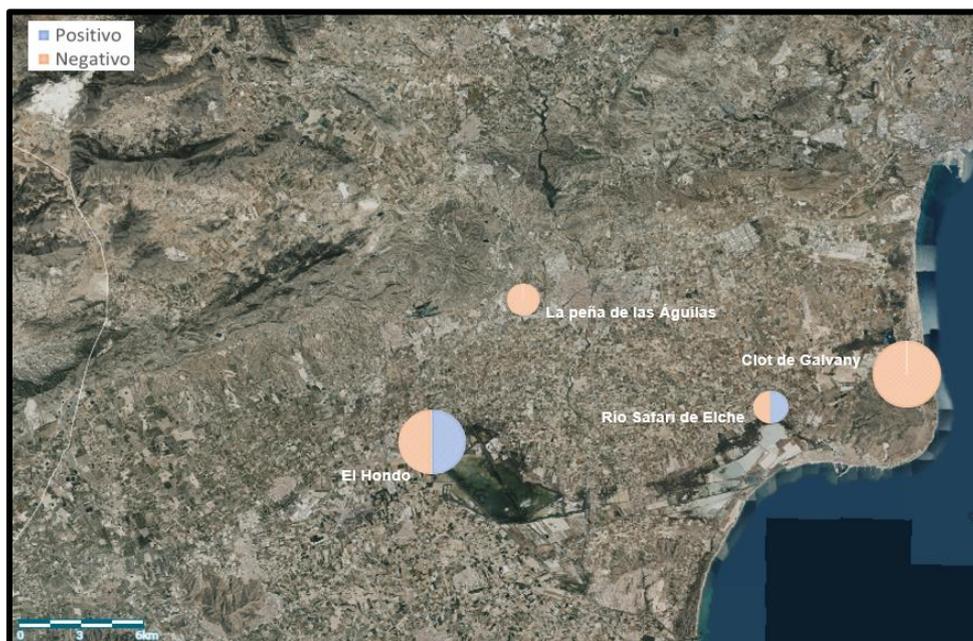


Figura 11. Mapa en el que se representa la proporción de los casos de Bd en cada uno de los puntos muestreados.

Tabla 5. Resultados de las pruebas de laboratorio para Bd, Bsal y Rv, para cada uno de los individuos muestreados. Carga_Bb hace referencia a la carga fúngica en cada uno de los individuos, medida en equivalentes genómicos de zoosporas. Respecto a la infección cuando pasa del 0,1 de carga se ha considerado (+) Positivo. Si no es así, se ha considerado (-) Negativo.

Localización	Especie	Carga_Bd	Infección Bd (+/-)	Infección Bsal (+/-)	Infección Rv (+/-)	Coord X	Coord Y
Clot de Galvany (N=12)	<i>P. perezi</i>	0,0	-	-	-	0°31'43.62"O	38°14'34.82"N
	<i>P. perezi</i>	0,0	-	-	-	0°31'43.62"O	38°14'34.82"N
	<i>P. perezi</i>	0,0	-	-	-	0°31'43.62"O	38°14'34.82"N
	<i>P. perezi</i>	0,0	-	-	-	0°31'35.95"O	38°14'32.11"N
	<i>P. perezi</i>	0,0	-	-	-	0°31'35.95"O	38°14'32.11"N
	<i>P. perezi</i>	0,0	-	-	-	0°31'43.62"O	38°14'34.82"N
	<i>P. perezi</i>	0,0	-	-	-	0°31'48.49"O	38°14'47.20"N
	<i>P. perezi</i>	0,0	-	-	-	0°31'31.26"O	38°14'33.68"N
	<i>P. perezi</i>	0,0	-	-	-	0°31'35.95"O	38°14'32.11"N
	<i>P. perezi</i>	0,0	-	-	-	0°31'35.95"O	38°14'32.11"N
	<i>P. perezi</i>	0,0	-	-	-	0°31'43.62"O	38°14'34.82"N

	<i>P. perezii</i>	0,0	-	-	-	0°31'43.62"O	38°14'34.82"N
Parque natural de El Hondo (N=12)	<i>P. perezii</i>	0,0	-	-	-	0°47'16.75"O	38°11'10.63"N
	<i>P. perezii</i>	36,1	+	-	-	0°47'16.75"O	38°11'10.63"N
	<i>P. perezii</i>	0,6	+	-	-	0°47'16.75"O	38°11'10.63"N
	<i>P. perezii</i>	23,2	+	-	-	0°47'16.75"O	38°11'10.63"N
	<i>P. perezii</i>	0,0	-	-	-	0°47'16.75"O	38°11'10.63"N
	<i>P. perezii</i>	315,5	+	-	-	0°47'21.97"O	38°11'13.42"N
	<i>P. perezii</i>	0,0	-	-	-	0°47'16.75"O	38°11'10.63"N
	<i>P. perezii</i>	0,0	-	-	-	0°47'7.46"O	38°11'8.48"N
	<i>P. perezii</i>	0,0	-	-	-	0°47'16.75"O	38°11'10.63"N
	<i>P. perezii</i>	5,3	+	-	-	0°47'16.75"O	38°11'10.63"N
	<i>P. perezii</i>	0,1	+	-	-	0°47'16.75"O	38°11'10.63"N
	<i>P. perezii</i>	0,0	-	-	-	0°47'16.75"O	38°11'10.63"N

Río Safari Elche (N=2)	<i>P. perezi</i>	558,5	+	-	-	0°36'7.38"O	38°13'3.66"N
	<i>P. perezi</i>	0,0	-	-	-	0°36'7.38"O	38°13'3.66"N
Sierra de Crevillente- Elche (N=4)	<i>E. calamita</i>	0,0	-	-	-	0°45'8.83"O	38°16'34.69" N
	<i>P. perezi</i>	0,0	-	-	-	0°45'8.83"O	38°16'34.69" N
	<i>P. perezi</i>	0,0	-	-	-	0°44'27.34"O	38°15'53.84" N
	<i>P. perezi</i>	0,0	-	-	-	0°44'27.34"O	38°15'53.84" N
	<i>P. perezi</i>	0,0	-	-	-	0°44'27.34"O	38°15'53.84" N

6. Discusión

Se ha realizado una revisión comparativa de los artículos científicos que abordan el género *Pelophylax*, generalmente poco sensibles a las enfermedades emergentes, frente a los publicados para *Alytes sp.*, muy sensible. Complementariamente, se ha realizado un muestreo de *Pelophylax perezii* para estimar la prevalencia de *Batrachochytrium dendrobatidis*, *Batrachochytrium salamandrivorans* y de *Ranavirus* en los humedales El Clot de Galvany y El Hondo, y valorar la posibilidad de que estos puedan actuar como reservorio.

La revisión bibliográfica en Scopus nos ofrece distintas conclusiones. En primer lugar, en todo el Paleártico hay una notable diferencia entre el número de artículos publicados para enfermedades emergentes en *Alytes sp.* y en *Pelophylax sp.*, siendo los del género *Alytes* más numerosos. En la Península Ibérica, se ha observado algo muy similar, habiendo encontrado 15 artículos sobre *Alytes sp.* y sólo 4 sobre *Pelophylax perezii*. De estos artículos, solo 2 de los artículos (Thumsová et al. 2021 y Bosch et al. 2013) incluyendo el género *Alytes* se han desarrollado en el sureste de la Península Ibérica. Esto ha evidenciado que existe un sesgo en la producción científica sobre enfermedades emergentes en el sureste Ibérico.

Con los artículos proporcionados por el cotutor del proyecto ha ocurrido algo muy similar. De los estudios que se han realizado en España, solo se ha encontrado un artículo (Walker et al. 2010) sobre *Bd* referente al sureste de la Península.

Este sesgo se puede deber a que el género *Alytes* (poco presente en el sureste Ibérico) es de las especies más sensibles, habiendo mostrado casos de mortalidad masiva por *Bd* en distintos puntos de España. Estos casos se han abordado en varios de los artículos encontrados tanto en la revisión realizada en Scopus (Bosch et al 2013), como en los aportados por el cotutor de este trabajo (Bosch et al 2001, 2007; Walker et al 2010; Rosa et al 2012). Por otro lado, la sensibilidad de este género también podría explicar que, además de haberse realizado más estudios, estos han sido más específicos. Por el contrario, los artículos que incluyen el género *Pelophylax* se enfocan en un menor número de especies (persiguen evaluar la presencia e impacto de los patógenos en el ambiente en su conjunto, no en una especie en concreto). Esto también tiene sentido respecto al *Pelophylax sp.* ya que, al contrario que *Alytes sp.*, es una especie muy resistente capaz en cierto modo de coexistir con la enfermedad, por lo que no tiene la misma prioridad.

Respecto a los ambientes, únicamente en torno al 11% de los artículos analizados se desarrollaron en humedales. El resto, fueron desarrollados en sierras, ríos y lagos. Esto evidencia una clara diferencia en la atención que han recibido los diversos ambientes. Esta diferencia puede deberse a que la temperatura en las cadenas montañosas y en zonas elevadas suele ser más baja, lo que es idóneo para algunas enfermedades emergentes como *Bd*, que tiene un crecimiento máximo entre 17-25 °C (Piotrowski et al. 2004) o para *Bsal*, que tiene un crecimiento óptimo entre 10-15 °C (Longcore et al. 1999).

Con el objetivo de aportar información sobre alguno de los sesgos identificados en la revisión, se estudió la prevalencia de enfermedades para la especie *Pelophylax perezi*, en humedales del sur de Alicante. Esta especie es relativamente abundante y muy extendida, a pesar de que se hayan constatado declives severos en áreas concretas (Dictamen CC 49/2020, de 20 de febrero de 2020). Además, aunque estas ranas verdes europeas son portadoras del hongo, hasta el momento no se han registrado mortalidades asociadas con *Bd*. Es decir, *P. perezi* es frecuentemente asintomática (Martínez-Silvestre et al. 2021).

Nuestros resultados sugieren que algunos humedales como El Hondo actúen como reservorio y foco de dispersión de *Bd* a través de su comunidad de aves. Tanto El Hondo como El Clot de Galvany son importantes pasos de aves migratorias, y, en este sentido, cabe apuntar que las esporas del hongo causante de la quitridiomycosis siguen siendo viables tras 30 minutos de desecación en las patas de diferentes aves acuáticas. Se estimó que, en ese tiempo, el ave era capaz de desplazarse unos 30 kilómetros, facilitando así la diseminación del hongo entre masas de agua aisladas entre sí (Bravo y Moreno 2020).

En este caso, mientras que en El Clot de Galvany no se ha visto presencia de ninguna de las enfermedades emergentes estudiadas, en El Hondo se ha visto una prevalencia de un 50% para *Bd*. La principal hipótesis que se plantea para explicar la ausencia de *Bd* en Clot es la diferencia entre las calidades de las aguas. Una primera opción puede ser que la calidad del agua en El Hondo sea baja, ya que se ha observado que algunos contaminantes pueden comprometer la respuesta inmune de animales como los anfibios (Zambrano-Fernández, 2023), lo que implicaría una mayor eficacia del hongo. La otra opción es que en El Clot de Galvany pueda haber algún contaminante que afecte al hongo y haga que no se reproduzca eficientemente. Otra hipótesis, a nuestro juicio menos plausible, es que la diferencia se deba a la temperatura del agua. Aunque ambos humedales estén relativamente cerca y tengan una temperatura

ambiente similar, el origen de sus aguas es distinto, lo que puede llevar a una temperatura del agua diferente. Las temperaturas bajas anulan el sistema inmunológico de los anfibios, por lo que se aumentan tanto la vida como los niveles de las zoosporas (Doddington et al. 2013) y los anfibios quedan más expuestos a la enfermedad. En cualquier caso, estas hipótesis requieren de futuros estudios que eluciden las causas de las diferencias encontradas.

Respecto al otro resultado positivo en el Río Safari de Elche, nos indica que esta enfermedad, en el sur no solo se encuentra en humedales, sino también en cualquier otro punto de agua de zonas bajas. La ausencia del hongo en las muestras analizadas de la Sierra de Crevillente también requiere de estudios futuros que corroboren si se encuentra verdaderamente ausente en las sierras áridas del sureste peninsular.

En base a nuestros resultados, podemos afirmar que resulta de gran importancia estudiar el desarrollo de enfermedades emergentes incluso en especies o ambientes, que no parezcan amenazados directamente por ellas. Es por ello que resultan tan importantes las asociaciones y actuaciones que se dedican promover el conocimiento científico de estas enfermedades, así como a buscar soluciones.



7. Conclusiones

En la revisión de artículos en este estudio se ha concluido que en todo el Paleártico hay una notable diferencia entre el número de artículos publicados para enfermedades emergentes en *Alytes sp.*, como especies sensibles que han acaparado multitud de estudios dirigidos a una única especie; y en *Pelophylax sp.*, especie poco sensible que se estudia en el contexto del ambiente que se muestrea.

Los humedales y los ambientes áridos del sur de la Península Ibérica cuentan con pocos estudios.

Se ha detectado presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* en *Pelophylax perezii* en El Hondo, por lo que este humedal podría actuar como reservorio y conducir a la infección de otras especies más sensibles.

Una de las muestras positivas se ha obtenido en pequeña charca del Río Safari de Elche, pero no se han encontrado muestras positivas en la Sierra de Crevillente (ambiente más árido).

No se ha detectado ni *Batrachochytrium salamandrivorans* ni *Ranavirus* en ninguno de los puntos en los que se han llevado a cabo muestreos.

8. Proyección futura

Dado que se desconoce el motivo de la presencia de *Bd* en *Pelophylax perezii* de El Hondo, pero la ausencia en El Clot de Galvany, sería muy interesante realizar un estudio de las aguas de ambos humedales para descartar o confirmar diversas hipótesis sobre las causas de este patrón.

9. Agradecimientos

He de agradecer a mi tutora Eva y a mi cotutor Jaime el apoyo que me ha dado durante estos meses de realización del proyecto, resolviendo mis dudas (que han sido bastantes) con dedicación y paciencia para que todo saliera lo mejor posible.

En segundo lugar, quisiera agradecer al Río Safari de Elche su colaboración aportando muestras para el proyecto.

También he de agradecer a la universidad como institución, por la formación proporcionada y porque en ella he conocido a nuevas personas y aficiones a las que nunca habría llegado si no hubiera pasado por ella.

Por último, me gustaría agradecer a todos los que han estado conmigo en el camino, a los viejos y nuevos amigos, a mi familia, a Mario y Almudena por acompañarme esas noches buscando ranas, sin los cuales este proyecto, y en general el paso por la universidad se habría hecho mucho más duro.

Muchas gracias a todos.



10. Bibliografía

- Abellán Contreras, F.J. (2019) *Gestión hídrica, protección ambiental y aprovechamiento agrario en el entorno del antiguo Sinus Illicitanus: El Hondo y Los Carrizales de Elche*. Melgarejo Moreno, Joaquín (ed.). Congreso Nacional del Agua Orihuela. Innovación y Sostenibilidad. Alacant: Universitat d'Alacant, ISBN 978-84-1302-034-1, pp. 731-744
- Baláž, V., Vojar, J., Civiš, P., Šandera, M., Rozínek, R. (2014), *Chytridiomycosis risk among Central European amphibians based on surveillance data*, Diseases of Aquatic Organisms 112(1), pp. 1-8
- Bosch J., García-Alonso D., Fernández-Beaskoetxea S., (...) Garner T.W.J (2013). *Evidence for the Introduction of Lethal Chytridiomycosis Affecting Wild Betic Midwife Toads (Alytes dickhilleni)*. EcoHealth 10, 82–89, 2013
- Bosch J., Martínez-Solano I., García-Paris M. (2001) *Evidence of a chytrid fungus infection involved in the decline of the common midwife toad (Alytes obstetricans) in protected areas in central Spain*. Biological Conservation 97:331–337
- Bosch Pérez, J., Martínez-Silvestre A., Thumsová B., (2023), *Vigilancia epidemiológica y seguimiento poblacional de los anfibios ibéricos*, Munibe Monographs. Nature Series, 5
- Bosch Pérez, J., Thumsová, B., Martínez-Silvestre, A., Cadenas Valdivielso, V., (s.f.) *Enfermedades emergentes*, <http://sosanfibios.org>
- Bravo, J., Moreno, G. (2020) *Quitridiomycosis en anfibios*, Bol. Soc. Micol. Madrid 44: (pág 27-49).
- Brunner J.L., Storfer A., Gray M.J., Hoverman J.T. (2015), *Ranavirus Ecology and Evolution: From Epidemiology to Extinction*, Ranaviruses Lethal Pathogens of Ectothermic Vertebrates, Springer Open, pp. 71-104
- Concejalía de Medio ambiente del Ayuntamiento de Elche, (s.f.) Paraje Natural Municipal Clot de Galvany. <https://clotdegalyany.es/>
- Conselleria d'Agricultura, Medi Ambient, Canvi Climàtic i Desenvolupament Rural (s.f.), Parcs Naturals de la Comunitat Valenciana - El Fondo <https://parquesnaturales.gva.es/va/web/pn-el-fondo>
- Costa, S., Lopes, I., Proença, D.N., Ribeiro, R., Morais, P.V. (2016) *Diversity of cutaneous microbiome of Pelophylax perezi populations inhabiting different environments*. Science of the Total Environment 572, pp. 995-1004

- De Mello, R., Pessanha Zviejkovsk, I., Gonçalves Rabelo, S., (2012) *Material da disciplina de Evolução Biológica, do 3º período do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas modalidade à distancia*. Licenciatura em Ciências Biológicas, volume 1
- Delia Basanta, M. (2019) *Ecología y evolución de enfermedades emergentes: una revisión de ranavirus y quitridiomycosis*, Revista latinoamericana de herpetología Vol.02 No.01 (pág 9-25)
- Dictamen del comité científico, CC 49/2020, *Solicitud de dictamen sobre la posible inclusión de las especies Salamandra salamandra, Bufo spinosus y Pelophylax perezi en el Listado de Especies Silvestres en Régimen de Protección Especial, según propuesta de la Asociación Herpetológica Española (AHE)*, Ministerio de agricultura, alimentación y medio ambiente, 20 de enero de 2020.
- Doddington B.J., Bosch, J., Oliver, J.A., (...) Fisher M.C. (2013) *Context-dependent amphibian host population response to an invading pathogen* Ecology, 94(8), pp. 1795–1804
- González, A., Martínez del Mármol, G. (3 de Diciembre de 2021) *Serie hérmptos ibero africanos. Capítulo 1: LOS ANFIBIOS*. Bicheando.net Herpetología para todos. <https://bicheando.net/>
- Hangartner, S., Laurila, A. (2012) *Effects of the disinfectant Virkon S on early life-stages of the moor frog (Rana arvalis)*, Amphibia Reptilia 33(3-4), pp. 349-353
- Kärveemo, S., Meurling, S., Berger, D., Höglund, J., Laurila, A. (2018) *Effects of host species and environmental factors on the prevalence of Batrachochytrium dendrobatidis in northern Europe*, PLoS ONE 13(10),e0199852
- Listados de especies obtenidos del Servidor de Información de Anfibios y Reptiles de España (SIARE). <https://siare.herpetologica.es/bdh/especiesxutm10>
- Longcore JE, Pessier AP, Nichols DK (1999) *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp.nov., a chytrid pathogenic to amphibians. Mycologia 91(2):219–227
- Loongore, Pessier, D.K. Nichols, 1999, CATÁLOGO ESPAÑOL DE ESPECIES EXÓTICAS INVASORAS *Batrachochytrium dendrobatidis*, Memoria Técnica Justificativa
- Luis Echevarrías, J., (2003) Restauración ecológica de la finca el rincón (Parque Natural El Hondo, Crevillente, Alicante): Creación de un hábitat idóneo para la cerceta pardilla *Marmaronetta Angustirostris*, Ecología, manejo y conservación de los humedales (pp. 139-149). Instituto de Estudios Almerienses.

- Martel, A., Spitzen-van der Sluijs, A., Blooi, M., (...), Pasmans, F. (2013), *Batrachochytrium salamandrivorans* sp. nov. causes lethal chytridiomycosis in amphibians, PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, Vol. 110 | No. 38
- Martínez-Silvestre, A., Cadenas, V., Puig Ribas, M., (...), Bosch J. (2021), *Enfermedades infecciosas emergentes en anfibios*, Consulta de Difusión Veterinaria. 30(287):45-51.
- Martínez-Silvestre, A., García-Salmeron, A., Pujol-Buxó E., (...), Bosch, J. (2022) *Anàlisi de patògens emergents dels amfibis dins de 7 parcs de la Xarxa de Parcs Naturals de la Diputació de Barcelona*, BUTLL. SOC. CATALANA D'HERPETOLOGIA NÚM. 29: 44-55.
- Martínez-Silvestre, A., Velarde, R., Marschang, R.E., (...), Thumsová, B., Bosch, J. (2021) *First record of amphibian mortality associated with the fungus Batrachochytrium dendrobatidis in Catalonia (NE Spain)*, Basic and Applied Herpetology 35, pp. 5-17
- Medina-Vogel, G. (2010). *Ecología de enfermedades infecciosas emergentes y conservación de especies silvestres*. Archivos de medicina veterinaria, 42(1), 11-24.
- Miralles Cantó, J.A., (2018) *Itinerario ambiental Sierra de Crevillente*, Universidad Miguel Hernández de Elche, TFG- Ciencias Ambientales. Recuperado a partir de: <https://hdl.handle.net/11000/6368>
- Oromí Durich, J., (2000) *Enfermedades emergentes y reemergentes: algunas causas y ejemplos*, Medicina Integral Vol. 36. Núm. 3. páginas 79-82
- Piotrowski J.S., Annis S.L., Longcore J.E. (2004). *Physiology of Batrachochytrium dendrobatidis, a chytrid pathogen of amphibians*. Mycologia 96(1):9-15
- RÍO SAFARI ELCHE. Centro de conservación de animales desde 1983. *Sobre Río Safari*. <https://riosafari.com/sobre-rio-safari/>
- Rosa G.M., Anza I., Moreira P.L., (...), Bosch J. (2012) *Evidence of chytrid-mediated population declines in common midwife toads (Alytes obstetricans) in Serra da Estrela Portugal*. Animal Conservation, Volume 16, Issue3, pp 306-315
- Sancho V., Lacomba I., Candela J.A., (...) Pérez A.L. (2015) *Sobre una población introducida de Triturus pygmaeus en Crevillent (Alicante)*. Bol. Asoc. Herpetol. Esp. 26
- Scopus Info. Elsevier. Consultado el 13 de junio de 2023. <https://www.elsevier.com/solutions/scopus>

- Speybroeck, J., Beukema, W., Bok, B., Van Der Voort, J., (2017) *Guía de campo de los anfibios y reptiles de España y Europa*. Ediciones Omega S.L. (pág 16-17)
- Thumsová, B., Donaire-Barroso, D., El Mouden, E.H., Bosch, J. (2022), *Fatal chytridiomycosis in the Moroccan midwife toad *Alytes maurus* and potential distribution of *Batrachochytrium dendrobatidis* across Morocco*, African Journal of Herpetology 69(2), pp. 151-164
- Thumsová, B., González-Miras, E., Faulkner, S.C., Bosch, J (2021)., *Rapid spread of a virulent amphibian pathogen in nature*, Biological Invasions 23(10), pp. 3151-3160
- Walker S.F., Bosch J., Gomez V., (...) Fisher M.C. (2010) *Factors driving pathogenicity versus prevalence of the amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* and chytridiomycosis in Iberia*. Ecology Letters 13:372–382
- Zambrano Fernández, S. (2023) *Comparación entre hábitats de los efectos a corto, medio y largo plazo de una exposición crónica a amonio durante la fase larvaria de la rana común (*Pelophylax perezi*)*. UMA Editorial



ANEXO

Tabla 1. Referencias de los Resultados Útiles (RU) obtenidos en la revisión en Scopus.

Referencias de Scopus
Abdel-Ghaffar, F., Abdel-Gaber, R., Maher, S., (...), Al Quraishy, S., Mehlhorn, H. (2017) <i>Morphological and ultrastructural characteristics of Myxobolus ridibundae n. sp. (Myxosporea: Bivalvulida) infecting the testicular tissue of the marsh frog Rana ridibunda (Amphibia: Ranidae) in Egypt</i> , Parasitology Research 116(1), pp. 133-141
Allain, S.J.R., Goodman, M.J., (2018), <i>The absence of the amphibian chytrid fungi in the common midwife toad (Alytes obstetricans) from an introduced population in Cambridge, UK</i> , Herpetology Notes 11, pp. 451-454
Ariel, E., Kielgast, J., Svart, H.E., (...), Holopainen, R., (2009), <i>Ranavirus in wild edible frogs Pelophylax kl. esculentus in Denmark</i> , Diseases of Aquatic Organisms 85(1), pp. 7-14
Azmanis, P.N., Strachinis, I., Lymberakis, P., Marschang, R.E. (2016), <i>First detection of the amphibian chytrid fungus (Batrachochytridium dendrobatidis) in free-living anuran populations in Greece</i> , Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society 67(4), pp. 253-258
Baláž, V., Vojar, J., Civiš, P., Šandera, M., Rozínek, R. (2014), <i>Chytridiomycosis risk among Central European amphibians based on surveillance data</i> . Diseases of Aquatic Organisms 112(1), pp. 1-8
Balseiro A., Dalton, K.P., del Cerro, A., (...) Casais, R., (2010), <i>Pathology, isolation and molecular characterisation of a ranavirus from the common midwife toad Alytes obstetricans on the Iberian Peninsula</i> , Diseases of Aquatic Organisms 84(2):95-104
Bates, K.A., Clare, F.C., O'Hanlon, S., (...), Fisher, M.C., Harrison, X.A., (2018), <i>Amphibian chytridiomycosis outbreak dynamics are linked with host skin bacterial community structure</i> , Nature Communications 9(1),693
Bates, K.A., Sommer, U., Hopkins, K.P., (...), Garner, T.W.J., Fisher, M.C. (2022), <i>Microbiome function predicts amphibian chytridiomycosis disease dynamics</i> , Microbiome 10(1),44
Beebee, T., (2012), <i>Impact of Ranavirus on garden amphibian populations</i> , Herpetological Bulletin - Number 120
Bielby, J., Price, S.J., Monsalve-Carcaño, C., Bosch, J.,(2021), <i>Host contribution to parasite persistence is consistent between parasites and over time, but varies spatially</i> , Volume31, Issue3, April 2021, e02256

Bielby, J., Sausor, C., Monsalve-Carcaño, C., Bosch, J., (2022), *Temperature and duration of exposure drive infection intensity with the amphibian pathogen Batrachochytrium dendrobatidis*, PeerJ 10,e12889

Bina Perl, R.G., Gafny, S., Malka, Y., (...), Vences, M. (2017), *Natural history and conservation of the rediscovered Hula painted frog, Latonia nigriventer*, Contributions to Zoology 8(1), pp. 11-37

Böll, S., Toble, U., Geiger C.C., (...) R Schmidt, B., (2014) *Differing Bd-prevalences and -infection intensities of different amphibian species and life-stages at a location infested with the chytrid fungus in the Bavarian Rhön*, Zeitschrift für Feldherpetologie 21(2):183-194

Bosch J., García-Alonso, D., Fernández-Beaskoetxea, S., C Fisher, M., Garner, T.W.J., (2013), *Evidence for the introduction of lethal chytridiomycosis affecting wild betic midwife toads (Alytes dickhilleni)*, March 2013, EcoHealth 10(1)

Bosch, J., Carrascal, L.M., Manica, A., Garner, T.W.J., (2020) *Significant reductions of host abundance weakly impact infection intensity of Batrachochytrium dendrobatidis*, PLoS ONE 15(11 November),e0242913

Bosch, J., Elvira, S., Sausor, C., (...), Alonso, R., Bermejo-Bermejo, V. (2021), *Increased tropospheric ozone levels enhance pathogen infection levels of amphibians*, Science of the Total Environment 759,143461

Bosch, J., Martínez-Solano I., García-París, M., (2001), *Evidence of a chytrid fungus infection involved in the decline of the common midwife toad (Alytes obstetricans) in protected areas of central Spain*, Biological Conservation, Volume 97, Issue 3, February 2001, Pages 331-337

Bosch, J., Sanchez-Tomé, E., Fernández-Loras, A., (...), Fisher, M.C., Garner, T.W.J., (2015), *Successful elimination of a lethal wildlife infectious disease in nature*, Biology Letters 11(11),0874

Bosch, J., Thumsová, B., López-Rojo, N., (...), Fisher, M.C., Boyero, L. (2021), *Microplastics increase susceptibility of amphibian larvae to the chytrid fungus Batrachochytrium dendrobatidis*, Scientific Reports 11(1),22438

Cadi, R.A.E., Laghzaoui, E.-M., Crottini, A., (...), Bosch, J., Mouden, E.H.E.L. (2019), *Occurrence of batrachochytrium dendrobatidis in the tensift region, with comments on its spreading in Morocco*, Acta Herpetologica 14(2), pp. 109-115

Clare, F., Daniel, O., Garner, T., Fisher, M., (2016), *Assessing the ability of swab data to determine the true burden of infection for the amphibian pathogen Batrachochytrium dendrobatidis*, EcoHealth 13(2), pp. 360-367

Clare, F.C., Halder, J.B., Daniel, O., (...), Bosch, J., Fisher, M.C., (2016), *Climate forcing of an emerging pathogenic fungus across a montane multi-host community*, Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 371(1709),20150454

Courtois, E.A., Loyau, A., Bourgoïn, M., Schmeller, D.S., (2017), *Initiation of Batrachochytrium dendrobatidis infection in the absence of physical contact with infected hosts – a field study in a high altitude lake*, Oikos 126(6), pp. 843-851

Erismis, U.C., Konuk, M., Yoldas, T., (...), Korean, S.E. (2014), *Survey of Turkey's endemic amphibians for chytrid fungus Batrachochytrium dendrobatidis* Diseases of Aquatic Organisms 111(2), pp. 153-157

Federici, S., Clemenzi, S., Favelli, M., Crottini, A., (2008), *Identification of the pathogen Batrachochytrium dendrobatidis in amphibian populations of a plain area in the Northwest of Italy*, Herpetology Notes 1(1):33-37

Fernández-Beaskoetxea, S., Bosch, Bielby, J., (2016), *Infection and transmission heterogeneity of a multi-host pathogen (Batrachochytrium dendrobatidis) within an amphibian community*, Diseases of Aquatic Organisms 118 11-20

Ficetola, G.F., , Valentini, A., Miaud, C., Noferini, A., (...), Tony, D., (2011), *Batrachochytrium dendrobatidis in amphibians from the Po River Delta, Northern Italy*, Acta Herpetologica 6(2): 297-302

Geiger, C.C., Schmidt B.R., (2013), *Laboratory tests of antifungal agents to treat tadpoles against the pathogen Batrachochytrium dendrobatidis*, Biology, Environmental Science, Diseases of aquatic organisms

Geiger, C.C., Bregnard, C., Maluenda, E., Voordouw, M.J., Schmidt, B.R., (2017), *Antifungal treatment of wild amphibian populations caused a transient reduction in the prevalence of the fungal pathogen, Batrachochytrium dendrobatidis*, Scientific Report 7(1), 5956

Goren, L., Routtu, J., Ben-Ami, F., (2014), *Trematode-associated morbidity and mortality of tadpoles in Israel*, Parasitology Research 113(10), pp. 3833-3841

Greener, M.S., Verbrugghe, E., Kelly, M., (...), Pasmans, F., Martel, A., (2020), *Presence of low virulence chytrid fungi could protect European amphibians from more deadly strains*, Nature Communications 11(1),5393

Hansbauer, G., Geiger, C.C., Schmidt, B.R., Tobler, U., (2012), *The amphibian chytrid fungus in Bavarian populations of Alytes obstetricans: Past absence, current presence, and metamorph mortality*, Amphibia-Reptilia 33(3-4):319-326

Herczeg, D., Vörös, J., Végvári, Z., Kuzmin, Y., Brooks, D.R., (2016), *Helminth parasites of the pelophylax esculentus complex (Anura: Ranidae) in Hortobágy National Park (Hungary)*, Comparative Parasitology 83(1), pp. 36-48

Innal, D., Sozbilen, D., Ozmen, O., (2019), *Prevalence and pathology of Lernaea cyprinacea (Crustacea: Lernaeidae) parasitizing tadpoles of Pelophylax bedriagae (Anura: Ranidae) in Antalya, Turkey*,

Phyllomedusa 18(2), pp. 177-183

Kärvemo, S., Wikström, G., Widenfalk, L.A., Höglund, J., Laurila, A., (2020), *Chytrid fungus dynamics and infections associated with movement distances in a red-listed amphibian*, Journal of Zoology 311(3), pp. 164-174

Khalifa, A.Y.Z., AlMalki, M.A., Bekhet, G.M., (2021), *Pathological and mortality findings associated with Aeromonas hydrophila from frog eggs in Al-Ahsa region of Saudi Arabia*, Aquaculture Research 52(3), pp. 1227-1236

Khalifa, A.Y.Z., Bekhet, G. (2018) *First isolation and characterization of the pathogenic Aeromonas veronii bv. veronii associated with ulcerative syndrome in the indigenous Pelophylax ridibundus of Al-Ahsaa, Saudi Arabia*, Microbial Pathogenesis 117, pp. 361-368

Kik, M., Martel, A., Spitzen-van der Sluijs, A., Pasmans, F., (...) Rijks, J.M., (2011), *Ranavirus-associated mass mortality in wild amphibians, The Netherlands, 2010: A first report*, The Veterinary Journal, Volume 190, Issue 2, November 2011, Pages 284-286

Kolenda, K., Najbar, A., Ogielska, M., Baláž, V. (2017), *Batrachochytrium dendrobatidis is present in Poland and associated with reduced fitness in wild populations of Pelophylax lessonae*, 1 Diseases of Aquatic Organisms 124(3), pp. 241-245

Kulikova, A.A., Pupina, A., Pupins, M., Čeirāns, A., Baláž, V., (2022), *Survey for Batrachochytrium dendrobatidis and Batrachochytrium salamandrivorans in Latvian Water Frogs*, J Wildl Dis (2022) 58 (2) 440–444.

Martel, A., Spitzen-Van Der Sluijs, A., Blooi, M., (...), Bossuyt, F., Pasmans, F., (2013), *Batrachochytrium salamandrivorans sp. nov. causes lethal chytridiomycosis in amphibians*, Published by Proceedings of the National Academy of Sciences

Martel, A., Van Rooij, P., Vercauteren, G., (...), Haesebrouck, F., Pasmans, F. (2011), *Developing a safe antifungal treatment protocol to eliminate Batrachochytrium dendrobatidis from amphibians*, Medical Mycology, Volume 49, Issue 2, February 2011, Pages 143–149

Martinez-Silvestre, A., Velarde, R., Marschang, R.E., (...), Bosch, J. (2021), *First record of amphibian mortality associated with the fungus Batrachochytrium dendrobatidis in Catalonia (NE Spain)*, Basic and Applied Herpetology 35, pp. 5-17

Molchanova, E.V., Prilepskaya, D.R., Negodenko, A.O., Luchinin, D.N., Khabarova, I.A., (2021), *Sensitivity of Quails (Coturnix coturnix), Siskins (Carduelis spinus), and Frogs (Rana ridibunda) to West Nile Virus*, Bulletin of Experimental Biology and Medicine 171(4), pp. 461-463

Ohst, T., Graeser, Y., Mutschmann, F., Plötner, J., (2011), *New data about the threat of chytridiomycosis to European amphibians*, Zeitschrift fur Feldherpetologie 18(1):1-17

Ohst, T., Gräser, Y., Plötner, J. (2013), *Batrachochytrium dendrobatidis in Germany: Distribution, prevalences, and prediction of high risk areas*. Diseases of Aquatic Organisms 107(1), pp. 49-59

Ortiz-Santaliestra, M.E., Fisher, Matthew C., Fernández-Beaskoetxea, S., Fernández, M.J.; Bosch, J., (2011), *Ambient Ultraviolet B Radiation and Prevalence of Infection by Batrachochytrium dendrobatidis in Two Amphibian Species*, Conservation Biology 25(5): 975-982

Ouellet, M., Dejean, T., Galois, P. (2012), *Occurrence of the amphibian chytrid fungus Batrachochytrium dendrobatidis in introduced and native species from two regions of France*, Amphibia Reptilia 33(3-4), pp. 415-422

Palomar, G., Jakóbk, J., Bosch, J., Kolenda, K., (...) Pabijan, M., (2021), *Emerging infectious diseases of amphibians in Poland: distribution and environmental drivers*, Dis Aquat Organ 147:1-12.

Pasmans, F., Muijsers, M., Maes, S., Van Rooij, P.,(...), Martel, A., (2010), *Chytridiomycosis related mortality in a midwife toad (Alytes obstetricans) in Belgium*, Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift 79(6):460-462

Rosa, G. M., Anza, I., Moreira, P. L., Conde, J., (...), Bosch, J., (2013), *Evidence of chytrid-mediated population declines in common midwife toad in Serra da Estrela, Portugal*, Animal Conservation Volume16, Issue3, Pages 306-315

Sainsbury, A.W., Yu-Mei, R., Ågren, E., (...), Peniche, G., Foster, J., (2017), *Disease Risk Analysis and Post-Release Health Surveillance for a Reintroduction Programme: the Pool Frog Pelophylax lessonae*, Transboundary and Emerging Diseases 64(5), pp. 1530-1548

Schmidt, B., R., Geiger, C., C., Origgi, F.C., (2013), *Accumulation of the pathogenic fungus batrachochytrium dendrobatidis on the regressing tail of midwife toads alytes obstetricans undergoing metamorphosis*, Amphibia-Reptilia 34(2):1-4

Spitzen-Van Der Sluijs, A., Martel, A., Hallmann, C.A., (...), Haesebrouck, F., Pasmans, F., (2014), *Environmental Determinants of Recent Endemism of Batrachochytrium dendrobatidis Infections in Amphibian Assemblages in the Absence of Disease Outbreaks*, Conservation Biology 28(5), pp. 1302-1311

Stöhr, A.C., Hoffmann, A., Papp, T., Robert, N., (...), Marschang, R.E., (2013), *Long-term study of an infection with ranaviruses in a group of edible frogs (Pelophylax kl. esculentus) and partial characterization of two viruses based on four genomic regions*, Veterinary Journal 197(2), pp. 238-244

Stupar, M., Breka, K., Krizmanić, I., Stamenković, S., Grbic, M.L., (2020), *First report of water mold (Aphanomyces sp.) documented on skin of pool frog (Pelophylax lessonae) in Serbia*, North-Western Journal of Zoology 16(2), pp. 216-219

Thumsová, B., Donaire-Barroso, D., El Mouden, E.H., Bosch, J., (2022), *Fatal chytridiomycosis in the Moroccan midwife toad *Alytes maurus* and potential distribution of *Batrachochytrium dendrobatidis* across Morocco*, African Journal of Herpetology 69(2), pp. 151-164

Thumsová, B., González-Miras, E., Faulkner, S.C., Bosch, J (2021)., *Rapid spread of a virulent amphibian pathogen in nature*, Biological Invasions 23(10), pp. 3151-3160

Tobler U., Borgula A., Schmidt B.R., (2012), *Populations of a Susceptible Amphibian Species Can Grow despite the Presence of a Pathogenic Chytrid Fungus*, PLoS ONE 7(4): e34667. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034667>

Tobler, U., Schmidt, B.R., (2010), *Within- and Among-Population Variation in Chytridiomycosis-Induced Mortality in the Toad *Alytes obstetricans**. PLoS ONE 5(6): e10927. doi:10.1371/journal.pone.0010927

Vojar, J., Havlíková, B., Solský, M., Baláž, V. (2017), *Distribution, prevalence, and amphibian hosts of *Batrachochytrium dendrobatidis* in the Balkans*, Salamandra, 53(1), pp. 44–49

von Essen, M., Leung, W.T.M., Bosch, J., (...), Price, S.J. (2020), *High pathogen prevalence in an amphibian and reptile assemblage at a site with risk factors for dispersal in Galicia, Spain*, PLoS ONE 15(7 July),e0236803

Vörös, J., Herczeg, D., Fülöp, A., (...), Bosch, J. (2018), **Batrachochytrium dendrobatidis* in Hungary: An overview of recent and historical occurrence*, Acta Herpetologica 13(2), pp. 125-140

Woodhams, D.C., Bigler, L., Marschang, R., (2012), *Tolerance of fungal infection in European water frogs exposed to *Batrachochytrium dendrobatidis* after experimental reduction of innate immune defenses*, BMC Veterinary Research 8,197

Tabla 2. Referencias de los RU obtenidos a través del cotutor de este proyecto

Referencias aportadas por el cotutor

Bargalló, F., Albert Martínez–Silvestre A., Fernández, D., (2016), *Detección de *Batrachochytrium dendrobatidis* en anfibios asintomáticos en Cataluña*, Bol. Asoc. Herpetol. Esp. (2016) 27(2)

Doddington, B.J., Bosch, J., Oliver, J.A., Grassly, N.C., (...), Fisher, M.C., (2013), *Context-dependent amphibian host population response to an invading pathogen*, Ecology, 94(8), 2013, pp. 1795–1804

Göçmen B., Veith, M., Iğci, N., Akman, B., (...) Wagner, N., (2013), *No detection of the amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* in terrestrial Turkish salamanders (*Lyciasalamandra*) despite its occurrence in syntopic frogs (*Pelophylax bedriagae*)*, Salamandra 49(1)

Hidalgo-Vila, J., Díaz-Paniagua, C., Marchand, M.A., Cunningham, A.A., (2012), *Batrachochytrium dendrobatidis* infection of amphibians in the Doñana National Park, Spain, DISEASES OF AQUATIC ORGANISMS, Dis Aquat Org, Vol. 98: 113–119, 2012, doi: 10.3354/dao02419

M. Rosa, G., Sabino-Pinto, J., Laurentino T.G., (...) Bosch, J., (2017), *Impact of asynchronous emergence of two lethal pathogens on amphibian assemblages*, Scientific RepoRts, 7:43260, DOI: 10.1038/srep43260

Miras, M., Fernandez-Guiberteau, D., García, X., Bargalló, F., (...), Maluquer-Margalef, J., (2017), *Noves aportacions en la distribució de Batrachochytrium dendrobatidis a Catalunya*, Butll. Soc. Catalana Herpetologia, 24: 66–72

Montori, A., Sebastián, O.S., Franch, M., (...) Bosch, J. (2019), *Observations on the intensity and prevalence of Batrachochytridium dendrobatidis in sympatric and allopatric Epidalea calamita (native) and Discoglossus pictus (invasive) populations*, Published by Asociación Herpetológica Española

Oficialdegui, F.J., Sánchez, M.I., Monsalve-Carcaño, C., Boyero, L., Bosch, J., (2019), *The invasive red swamp crayfish (Procambarus clarkii) increases infection of the amphibian chytrid fungus (Batrachochytrium dendrobatidis)*, Biological Invasions volume 21, pages3221–3231

Saura-Mas P.S., Pifarré, M., Pedernera, C., (2016), *Diagnosi de la diversitat i distribució d'amfibis al Parc Natural dels Aiguamolls de l'Empordà*, AIEE, Figueres, 47 (2016), pàg. 233-262

Walker, S.F., Bosch, J., Gomez, V., (...) Fisher, M.C., (2010), *Factors driving pathogenicity vs. prevalence of amphibian panzootic chytridiomycosis in Iberia*, Ecology Letters, (2010) doi: 10.1111/j.1461-0248.2009.01434.x