



Les pandèmies silencioses: les malalties emergents dels amfibis

Albert Montori , Jhulyana López-Caro, Adrià Jordà i Daniel Fernández-Guiberteau

CREAC Centre de Recerca i Educació ambiental de Calafell.
Associació GRENP/Aj. de Calafell.

Resum: Les malalties infeccioses emergents són una de les principals causes en el declivi d'espècies i poblacions d'amfibis. Aquestes malalties són causades per patògens que han ampliat el seu rang geogràfic com a conseqüència fonamentalment del tràfic i comerç d'espècies. L'increment de distribució geogràfica i de nombre d'espècies afectades fa que actualment es considerin pandèmiques i ja es té constància de la desaparició com a mínim de 90 espècies d'amfibis. Malalties emergents d'amfibis com la ranaviròsi, la dermocistidiosi i la quitridiomicosi han ocasionat grans declivis en poblacions del món, on factors ecològics i evolutius estan implicats tant en la seva emergència com a la variació en la susceptibilitat de les espècies. En aquest treball es presenta una revisió de les malalties provocades per dermocistidis, ranavirus i quitridis en relació als factors ecològics que caracteritzen les infeccions, els seus efectes sobre les poblacions d'amfibis a escala mundial. També es presenten algunes mesures mitigadores assajades a diferents llocs i les mesures de bioseguretat bàsiques per tal de fer prevenció i conservació.

Summary: SILENT PANDEMICS: EMERGING DISEASES OF AMPHIBIANS.—Emerging infectious diseases are one of the leading causes of the decline of amphibian species and populations globally. These diseases are caused by pathogens that have expanded their geographical range, mainly as a result of trafficking and trade of species worldwide. The increase in geographical distribution and the number of affected species means that they are currently considered pandemics, and there is already evidence of the disappearance of at least 90 species of amphibians. Emerging amphibian diseases such as ranaviruses, dermocystidiosis and chytridiomycosis have caused major declines in world populations, and ecological and evolutionary factors are involved in both their emergence and the variation in species susceptibility. This paper presents a review of diseases caused by ranaviruses, dermocystidiosis and chytrids in relation to the ecological factors that characterize their infections and their effects on amphibian populations worldwide. It also presents some mitigating measures that have been tested and the basic biosecurity measures for prevention and conservation.

Introducció

El declivi mundial dels amfibis, tant de nivell poblacional com específic, és un fet reconegut de fa temps (Blaustein i Wake, 1990; Houlihan *et al.*, 2000; Stuart *et al.*, 2004; Beebee i Griffiths, 2005). De manera general, s'accepta que en els últims 50 anys s'ha produït una important pèrdua de biodiversitat de vertebrats quant a quantitat d'espècies i poblacions. Actualment els amfibis són el grup de vertebrats més amenaçat del Planeta ja que, un 41% de les més de 8.000 espècies descrites estan catalogades com en perill o vulnerables (UICN, 2021).

L'estat crític de moltes de les espècies d'amfibis és conseqüència, en gran part, de la vulnerabilitat d'aquest grup que viu a cavall entre el medi aquàtic i el terrestre, amb una fase larvària que es

desenvolupa a l'aigua i una postmetamòrfica principalment terrestre. Aquesta doble dependència del medi aquàtic i terrestre en el seu cycle vital fa que siguin espècies sensibles a l'alteració o canvi de qualsevol dels dos medis.

Pel que fa a les causes d'aquest declivi, l'alteració, la fragmentació i la pèrdua d'hàbitats, la disminució progressiva de la qualitat ambiental dels ecosistemes, la degradació i la contaminació dels sistemes aquàtics i humits en general, són les principals agressions que el provoquen (Sadinski i Dunson, 1992; Ortiz-Santaliestra *et al.*, 2004; Márquez i Lizana, 2002; Sparling *et al.*, 2000). A més, d'aquestes causes principals de la disminució de la biodiversitat d'amfibis cal afegir també altres factors d'aparició més recent com són l'augment de les espècies introduïdes, la pèrdua de connectivitat ecològica, l'augment de la

presència humana, l'augment de la radiació ultraviolada, el canvi climàtic i darrerament, l'aparició de malalties emergents (Bosch, 2003).

Què són les malalties emergents?

Fins fa uns 30 anys el concepte de malalties emergents era fonamentalment aplicat als humans i es definien com: malalties de nova descripció o reconegudes com a noves, o que apareixen en zones que no existien o havien estat eradicades, les que canvien el seu patró epidemiològic i les que, en molts casos, són d'origen animal i han aconseguit saltar la "barrera d'espècies" i adaptar-se a l'ésser humà. També es considera emergent una malaltia que fa una nova aparició que no es coneixia anteriorment.

En el cas dels amfibis caldria puntualitzar que les reconegudes fins ara són malalties ja existents que es trobaven molt localitzades en una zona concreta i que s'han expandit a altres zones i espècies per causes antròpiques, o bé que han augmentat la seva virulència a causa de canvis ambientals.

Entre les causes d'aparició i/o expansió estan la globalització, el tràfic i comerç d'espècies, l'augment de la freqüentació i explotació humana del medi i el canvi climàtic. A la figura 1 es representa el diagrama de Venn que mostra com per l'acció antròpica augmenta la susceptibilitat de les espècies per l'increment de la interacció entre els patògens, els hostes i l'ambient (Basanta, 2019). L'ecologia dels patògens involucra interaccions complexes amb l'ambient i les espècies, resultant en diferents rutes de transmissió, modes de persistència, reservoris, i diferents efectes en el sistema immune de l'hoste. La resposta diferencial de les poblacions d'amfibis davant la pre-

sència d'un patògen suggereix una relació entre variables ambientals com temperatura i humitat, al costat de característiques ecològiques de les espècies, cicle del patògen, desenvolupament de l'hoste, etc., que influeixen la susceptibilitat a la infecció (Bancroft *et al.*, 2011; Hoverman *et al.*, 2011; Hernández-López *et al.*, 2018). A més, els canvis ambientals de l'hàbitat o de l'ecosistema on es troben el patògen i l'hoste poden generar desequilibris en la seva dinàmica i ser la causa de l'emergència d'aquestes malalties.

Les principals malalties emergents que causen mortalitats massives de poblacions o espècies d'amfibis ja existien a d'altres zones del Planeta. El que ha succeït és que en els seus llocs d'origen portaven milers o milions d'anys coevolucionant amb l'hoste i presentaven una virulència atenuada que els permetia coexistir. Al trasllocar els patògens a un altre indret on no hi eren presents i amb un sistema i una comunitat batracològica diferent, aquesta coevolució no ha existit i pot ocórrer que el patògen sigui molt més virulent i produeixi la mort de l'hoste, o bé que l'amfibi no sigui afectat i aleshores es pugui convertir en una espècie reservori, fet que produeix que el patògen sigui molt més resilient a la zona. La gravetat de les malalties emergents es deu fonamentalment a aquesta manca de coevolució o d'adaptació mútua. El patògen no té gran "interès adaptatiu" en ser letal, l'objectiu pretès és utilitzar l'hoste per reproduir-se i expandir-se i això només s'aconsegueix després de molts i molts anys de coevolució.

El que veurem aquí són tot un seguit de malalties infeccioses que fins ara estaven restringides a zones concretes i que en els darrers vint o trenta anys han emergit i s'han estès per tot el món afectant moltes espècies d'amfibis, algunes de les quals s'han extingit per causa d'algun d'aquests

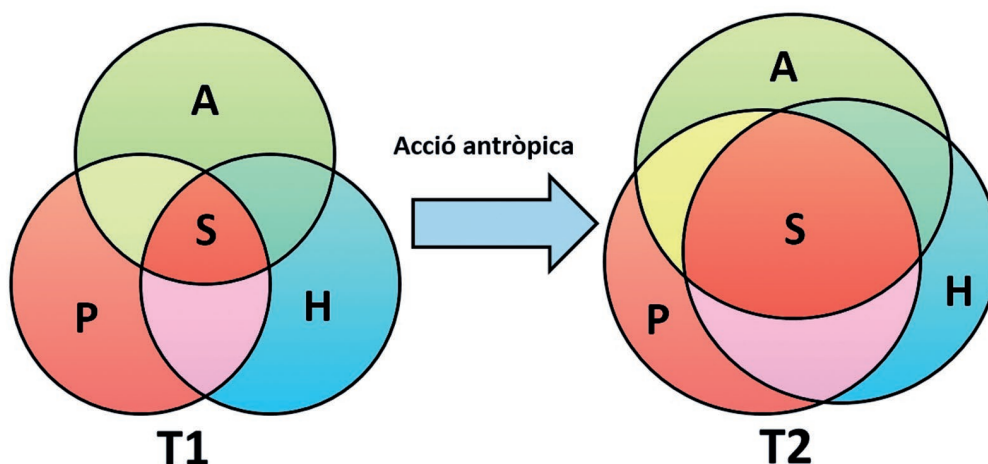


Figura 1. Diagrames de Venn representant les interaccions de l'ambient (A), hostes (H) i patògens (P). La interacció d'aquestes tres variables de nivell ecològic i evolutiu dona com a resultat la susceptibilitat (S). Els canvis en aquestes interaccions en el temps (t1 - t2) poden donar lloc a una interacció més gran entre hospedadors i ambients per part del patògen, el qual al dispersar-se, facilitat per l'ésser humà (desplaçaments, tràfic de fauna o alteració de sistemes aquàtics), pot incrementar la seva àrea de distribució, i sorgir com una malaltia emergent. Modificat de Basanta (2019).

Taula 1. Principals malalties emergents dels amfibis. S'indiquen només les espècies en les quals s'ha descrit mortalitat causada per l'agent infeccios a Espanya.

Tipus	Grup	Patògens identificats	Espècies amb mortalitat
Virus	Iridoviridae	Iridovirus Bohle (BIV) <i>Ambistoma tigrinum</i> virus (ATV) Ranavirus tipus 3 (FV3) Andaran <i>A. obstetricans</i> virus (AAOV) (Like FV3) Common midwife toad virus (CMTV) Bosca's newt virus (BNV) (Like CMTV)	<i>Ichthyosaura alpestris</i> <i>Pleurodeles waltl</i> <i>Triturus marmoratus</i> <i>Alytes obstetricans</i> <i>Bufo spinosus</i> <i>Rana pyrenaica</i>
Protistes	Mesomycetozoea	<i>Amphibiocystidium ranae</i> (<i>Dermocystidium ranae</i>) <i>Hepatpsphera molgarum</i> <i>Amphibiothecum meredithae</i> <i>Dermomycooides armoriacus</i> (cf. <i>Dermocystidium</i>)	<i>Lissotriton helveticus</i> <i>Lissotriton boscai</i> <i>Triturus marmoratus</i> <i>Ichthyosaura alpestris</i> <i>Alytes obstetricans</i> <i>Pelophylax perezii</i> <i>Rana temporaria</i>
Fongs	Rhizophydiales	<i>Batrachochytrium dendrobatidis</i>	<i>Salamandra salamandra</i> <i>Alytes obstetricans</i> <i>Bufo spinosus</i>
Fongs	Rhizophydiales	<i>Batrachochytrium salamandrivorans</i>	<i>Salamandra salamandra</i> <i>Triturus marmoratus</i> <i>Calotriton arnoldi</i>

agents infecciosos. Fins ara s'ha constatat l'extinció de 90 espècies (Scheele B. C. *et al.*, 2019) encara que aquest nombre podria superar les 200.

Les malalties emergents dels amfibis

Ara es coneixen diverses malalties que produeixen mortalitats massives de poblacions d'amfibis, però fins fa pocs anys l'única malaltia que semblava afectar els amfibis en condicions naturals era la coneguda com malaltia de la pota vermella (red-leg). Aquesta provoca mortalitats en massa d'adults i larves d'amfibis i presenta símptomes molt evidents caracteritzats per l'envermelliment del ventre i les potes. La seva aparició està relacionada amb la proliferació anormal del bacteri *Aeromonas hydrophyla* que, quan aconseguix grans concentracions, resulta letal per als amfibis. Tot i que aquesta malaltia s'ha associat a determinats declivis sembla ser que és un bacteri oportunista que infecta els amfibis quan es troben immunodeprimits per causa d'una altra malaltia i per factors d'estrès o degradació ambiental (Cunningham *et al.*, 1996). A més d'aquest bacteri, un patògen de peixos distribuït per tot el món, el fong *Saprolegnia feraç*, és conegut per provocar mortalitats massives d'ous d'amfibis. Moltes espècies de peixos que es troben introduïts en molts llocs de tot el món són portadors habituals d'aquest fong, i el seu paper en la transmissió d'aquest patògen als amfibis ha estat demostrat (Kiesecker *et al.* 2001).

Cap als anys 90 del passat segle els herpetòlegs i patòlegs van començar a veure que el declivi d'espècies i poblacions en aparent bon estat era difícil d'explicar i van començar a pensar que un altre agent infeccios havia d'estar darrere d'aquestes mortalitats massives (Laurance *et al.*, 1996). Així va ser quan es va investigar i es

van descobrir, alguna ja en aquest segle, les quatre malalties emergents que desenvoluparem en aquest article: una vírica (ranavirosi), una produïda per un protista (dermocistidiosi) i dues fúngiques (quitridiomicosi) (taula 1).

Ranavirosi

Els ranavirus són un grup d'espècies que pertanyen a la família Iridoviridae. Són virus icosaèdrics amb ADN de doble cadena i actualment es coneixen diversos tipus de ranavirus patògens per als amfibis: l'iridovirus Bohle (BIV), l'*Ambistoma tigrinum* virus (ATV), el Ranavirus tipus 3 (FV3) i el *Common midwife toad virus* (CMTV), els quals afecten unes dues-centes espècies d'amfibis (Duffus *et al.*, 2015). Malgrat tot, el recent descobriment d'aquest grup fa que la seva taxonomia estigui en constant revisió.

Els símptomes de la ranavirosi són: hemorràgies, necrosi dels òrgans interns i ulls, ulceracions a la pell i envermelliment del ventre i extremitats. La infecció per ranavirus facilita la infecció secundària per bacteris oportunistes com per exemple del gènere *Aeromonas*. De fet, la primera mortalitat massiva de tòtil (*Alytes obstetricans*) detectada a Espanya (Márquez *et al.*, 1995) va ser atribuïda a una sobreinfecció per *Aeromonas hydrophyla* quan en realitat se sospita que va ser conseqüència, en aquell cas, d'una infecció fúngica per quitridis que va provocar el creixement d'aquest bacteri oportunista de forma secundària.

Els ranavirus infecten peixos, rèptils i amfibis i tot indica que la seva expansió està relacionada amb la introducció de peixos i l'activitat humana. Malgrat l'àmplia distribució geogràfica i el gran nombre de casos detectats a Amèrica, Europa, Àsia i Austràlia, a Europa només s'havia descrit un declivi poblacional a la Gran Bretanya (Teac-

her *et al.*, 2010) i a una sola espècie: la granota roja (*Rana temporaria*). Malauradament, aquests darrers anys s'han detectat força nous casos de mortalitats per ranavirosi en amfibis, localitzats fonamentalment al nord de la Península Ibèrica. L'any 2005 es va detectar per primer cop al *Parque Nacional de Picos de Europa* (Astúries) (Price *et al.*, 2014), l'any 2010 a Galícia, el 2019 a Zamora (Flechoso *et al.*, 2019), al *Parque Nacional de Ordesa y Monte Perdido* (Osca) l'any 2020 i el 2021 a Euskalèria. Les dades semblen indicar que els brots es produeixen en zones fredes, en hàbitats degradats, estressats ambientalment i en poblacions d'amfibis que com a conseqüència es troben immunodeprimides. Per altra banda els brots han estat localitzats a zones molt freqüentades pels humans i com la major part de casos s'han donat en poblacions de zones fredes o d'altitud, s'està pensant que deu haver també alguna relació entre l'increment de casos virulents i l'escalfament global a causa del canvi climàtic, ja que al Pirineu s'ha produït una pujada de les temperatures un 30% més alt que la mitjana mundial. Al Regne Unit s'ha establert una relació clara entre la calor i el sorgiment de brots de ranavirus a la granota roja.

Les espècies de la Península Ibèrica en les quals s'ha detectat mortalitat fins ara per ranavirosi són l'ofegabous (*Pleurodeles waltl*) el tritó verd (*Triturus marmoratus*), el tritó palmat (*Lissotriton helveticus*), el tritó ibèric (*Lissotriton boscai*), el tritó alpi (*Ichthyosauria alpestris*), el tòtil (*Alytes obstetricans*), el gripau comú (*Bufo spinosus*), la granota verda (*Pelophylax perezi*) i la granota pirinenca (*Rana pyrenaica*). A Catalunya només s'ha detectat la presència de ranavirus a dues poblacions introduïdes de tritó alpi, una al Parc del Castell de Montesquiú (Fiblà *et al.*, 2015) i una altra al Parc del Montnegre i el Corredor (Martínez-Silvestre *et al.*, 2020). També a Vallgorguina (Martínez-Silvestre *et al.*, 2020) s'han descrit positius de ranavirus a la granota verda (*Pelophylax perezi*). En cap dels casos, però s'ha constatat, ara per ara, mortalitat d'amfibis associada a la infecció per ranavirus, tot i que la seva presència és el pas previ per a què es produeixi, ja que cada cop s'està localitzant a més indrets, la qual cosa fa pensar que el ranavirus estigui actualment en fase d'expansió per tot Europa.

Dermocistidiosi

En els darrers anys un nombre creixent de malalties infeccioses a la pell dels amfibis han estat atribuïdes a un grup d'organismes poc conegut, els dermocistidis. Aquests organismes pertanyents a la classe Mesomicetozoeu (ordre Dermocystida) infecten mamífers, aus, peixos i amfibis. En aquest últim grup, han estat identificats diversos gèneres i espècies com els agents infecciosos (taula 1).

En amfibis, les infeccions per dermocistidis es manifesten per la presència de quists cuta-



Figura 2. Exempler de tritó palmat (*Lissotriton helveticus*) afectat per dermocistidiosi. El quist que s'observa està ple d'endospores. Foto: Daniel Fernández-Guiberteau.

nis o nòduls que estan plens d'endòspores (fig. 2). Aquests quists poden produir hemorràgies subcutànies extenses, ulceracions i edemes. (González-Hernández *et al.*, 2010; Galán, i Dopereiro, 2017; Dopereiro, 2019). Les infeccions per dermocistidis rarament causen mortalitat en els seus hostes, però la informació existent sobre la seva biologia és molt escassa i molt recent (Dopereiro, 2019). És d'assenyalar que les primeres dades sobre la presència de dermocistidis en amfibis ibèrics més recents són de l'any 2016 (Ayres *et al.*, 2016). S'han detectat amfibis infectats per dermocistidis a tots els continents, excepte òbviament a l'Antàrtida. A Europa, s'han descrit en poblacions d'amfibis d'Itàlia, França, Suïssa, Holanda, Txèquia, Escòcia i a Espanya (Galán i Dopereiro, 2017; Diego-Rasilla, 2017; Martínez-Silvestre *et al.*, 2017; Ayres *et al.* 2020). A Catalunya només s'ha descrit a La Garrotxa (Martínez-Silvestre *et al.*, 2017).

Com ha succeït amb la ranavirosi, sembla que darrerament el nombre de casos que es descriuen van en augment sense que per ara se'n sàpiga la causa concreta. Tot i que no s'han descrit ara per ara mortalitats massives degudes a dermocistidiosi, les taxes d'infecció trobades a determinades poblacions de *Lissotriton helveticus* de Galícia, en la major part dels casos superiors al 60% dels individus (Dopereiro, 2019), ens fan ser curosos i vigilants amb l'evolució futura d'aquesta malaltia emergent.

Un aspecte positiu és que les dades publicades semblen indicar que quan els tritons abandonen l'aigua i inicien la fase terrestre la infecció remet fins a desaparèixer (Dopereiro, 2019).

Quitridiomicosi

Són un conjunt de malalties produïdes per moltes espècies de fongs de la divisió Chytridiomycota i causades pel gènere *Batrachochytrium*. Els quitridis són fongs molt primitius i són majoritàriament sapròfits (s'alimenten de matèria orgànica morta com cèl·lules de la pell, fulles i degraden la quitina i la queratina). Molts quitridis són aquàtics, la majoria d'aigua dolça, i es coneixen aproximadament unes 1.000 espècies. D'aquestes, dues, *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) i *Batrachochytrium salamandrivorans* (Bsal), ambdues d'origen asiàtic són les causants de la malaltia infecciosa anomenada quitridiomicosi dels amfibis i també són coneguts com els fongs assassins.

Aquestes malalties, conjuntament amb les exposades anteriorment, estan incidint negativament a les poblacions d'amfibis i s'ha demostrat que són les causants de l'extinció del voltant de 90 espècies d'aquest grup faunístic a tot el món (Scheele B. C. et al., 2019). L'expansió d'aquestes malalties, des del seu lloc d'origen fins a colonitzar quasi la totalitat del Planeta (actualment estan presents a més de 60 països), és deguda al comerç d'espècies amb la finalitat de fer recerca (estudis embriològics o la coneguda prova d'embaràs de la granota, entre altres exemples) i principalment al comerç d'espècies exòtiques per a la venda d'animals de companyia.

Quitridiomicosi per *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd)

El primer cas de mortalitat massiva d'una espècie d'amfibi va ser detectat el 1997 al massís de Peñalara i afectava inicialment a una sola espècie el tòtil (*Alytes obstetricans*) el qual va pràcticament desaparèixer de la zona (Bosch et al., 2001). El causant de la mortalitat no va ser identificat fins el següent any (Longcore et al., 1999), i es va descriure com una nova espècie (*Batrachochytrium dendrobatidis*). L'any 2004 la UICN inclou Bd al llistat de les 100 espècies invasores més perilloses i el 2009 ja es confirma la presència de Bd a tots els continents on hi ha amfibis (Fisher et al., 2009). A la figura 3 es pot veure la distribució actual del fong a escala mundial. A la Península Ibèrica (fig. 4) Bd ha estat detectat a gairebé totes les espècies encara que la majoria són asimptomàtiques (Montori et al., 2019). La mitjana de poblacions positives en l'àmbit espanyol és del 26,1% però sens dubte aquest nombre anirà en augment. A Catalunya s'han detectat positius de Bd al tritó pirinenc (*Calotriton asper*), al tritó verd (*Triturus marmoratus*), a la granota pintada (*Discoglossus pictus*), al tòtil (*Alytes algosivariii*), a la reineta (*Hyla meridionalis*), al gripau corredor (*Epidalea calamita*) i a la granota verda (*Pelophylax perezi*). Amb tota probabilitat a la majoria d'espècies donaran positives a Bd a mida que s'analitzin més poblacions. Actualment la major part d'espècies són portadores asimptomàtiques, però els canvis antròpics de l'ús del medi i de les condicions de temperatura previstos amb el canvi climàtic, poden fer variar la susceptibilitat de les espècies i la virulència del fong. Per altra banda, quan més

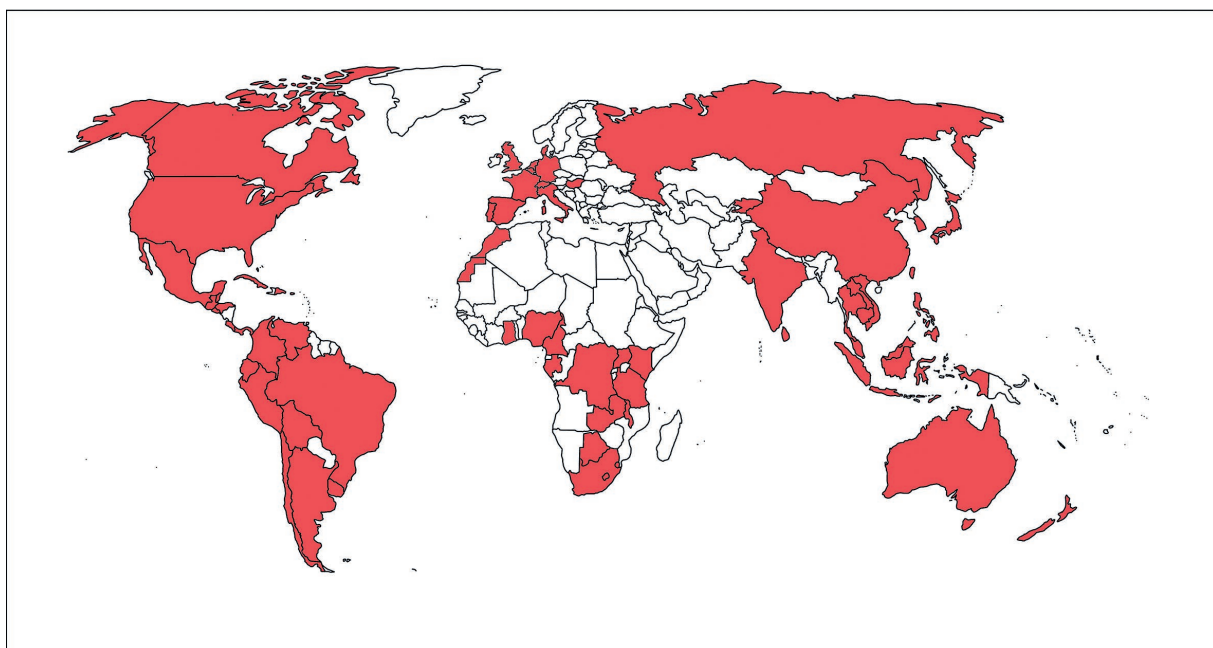


Figura 3. Distribució mundial coneguda de Bd en vermell. Modificat a partir de: Kolby i Daszak (2016) i OIE Global Conference on aquàtic animal health. Santiago de Chile 2-4 d'abril de 2019.

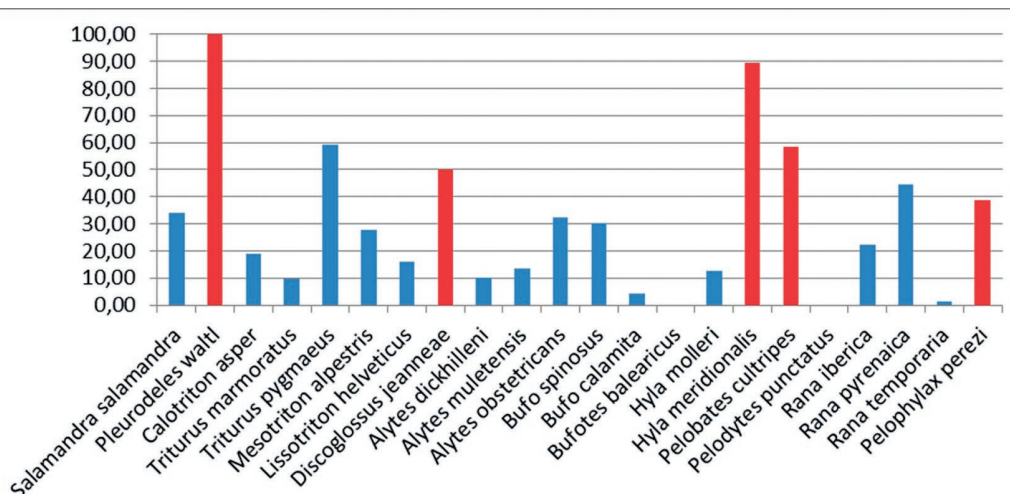


Figura 4. Percentatge de poblacions positives a Bd analitzades a Espanya. De mitjana el 26,1% de les poblacions han donat positiu. Font: Montori *et al.* (2019) i *BD data base*.

gran sigui l'expansió del fong més probabilitat hi ha que apareguin noves soques que puguin ser més virulentes o afectar espècies que fins ara no ho estaven.

El cicle de vida de Bd depèn fonamentalment de l'aigua i de la queratina, proteïna de la qual es nodreixen. Per completar el seu cicle biològic, han d'infectar un hoste, que en el cas que ens ocupa serà un amfibi. El fong creix a l'interior de les cèl·lules queratinitzades dels amfibis que es localitzen a l'epidermis dels individus postmetamòrfics i a la boca de les larves on tenen els denticles cornis. S'alimenta de la queratina i a l'epidermis forma uns saquets microscòpics anomenats esporangis, els quals, quan estan madurs, expulsen centenars d'espores flagel·lades anomenades zoòspores que són nedadores i poden infectar altres exemplars quan es dispersen per l'aigua o contacten amb un exemplar que està produint espores. Quan arriben a un altre exemplar, les espores entren a les cèl·lules de l'epidermis, infecten el nou individu i comença de nou el cicle. La destrucció de la queratina, la proliferació d'esporangis per autoinfecció i la mort de l'epidermis superficial, provoquen microfèrides i el desajust funcional de la pell que es tradueix en una alteració de l'equilibri hídric i de l'intercanvi d'electròlits, que acaben amb la vida de l'exemplar per aturada cardíaca en un lapse molt breu de temps i permeten l'entrada d'altres microorganismes que produeixen infeccions secundàries que poden emascarar la causa real de la mort. Les larves mantenen el fong als denticles cornis de la boca, però no moren. Quan fan la metamorfosi i la pell es queratinitza aleshores passen de la boca a l'epidermis i infecten l'individu. Si es tracta d'una espècie o grup d'espècies sensibles com els tòtils (*Alytes* spp.) i les condicions de creixement del fong són les òptimes (entre 17 i 25°C), mor en poc temps (fig. 5). Per sota de 10°C el seu creixement s'alenteix i per sobre de 28°C es deté. Les zoòspores moren en 4

h a 37°C i no toleren la dessecació, i es produeix una mortalitat del 100% a les 3 h d'assecat. Per aquest motiu a les basses temporals o efímeres els quitridis moren quan s'assequen. S'ha observat una prevalença més gran en basses grans i permanents que en basses temporals o efímeres amb més risc de dessecació. També la incidència és més alta a zones envoltades d'àrees agrícoles o urbanitzades.

La resposta davant la infecció varia entre espècies i fins i tot dins de la mateixa espècie, depenent de l'hoste, la virulència de fong i factors ambientals com l'estació, temperatura, altitud i intensitat de la radiació UV-B. A Catalunya la major part d'espècies mostren resistència o tolerància, i funcionen com a portadores, mentre que altres poden desenvolupar la malaltia i morir. És molt probable que als Pirineus catalans s'hagi pogut produir alguna mortalitat massiva d'*Alytes algosagarii* que no hagi estat detectada.

En condicions adequades de temperatura i humitat, Bd pot sobreviure en l'aigua, terra humida o en la queratina de diferents amfibis durant almenys dos mesos. La dispersió es produeix principalment pel moviment d'amfibis infectats, per mitjà d'aigües o sòls contaminats, pel bestiar i altres animals que es mouen per llocs aquàtics. Bd és capaç de créixer de forma sapròfita en plo-

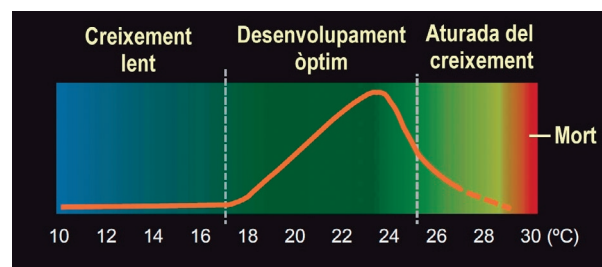


Figura 5. Desenvolupament de Bd a partir de la temperatura.

mes i escates queratinoses de les potes de les aus, exosquelets d'artròpodes i sobreviure en el tracte gastrointestinal de crancs de riu, de manera que aquests animals constitueixen també potencials vectors de dispersió. Però a més també hi ha una dispersió antròpica amb el calçat (treballs, estudis i pràctiques esportives al medi aquàtic) i per l'alliberament d'espècies exòtiques (Bargalló *et al.* 2016).

Els brots letals de quitridiomicosi es donen amb més freqüència en regions muntanyoses d'alçada. Això s'observa especialment en els tròpics on la major part dels episodis de mortalitat s'han donat en zones de temperatures fresques. També és evident en el cas d'Espanya on, tot i que Bd està àmpliament distribuïda, només es coneixen episodis de mortalitat massiva en àrees muntanyoses (Bosch *et al.*, 2010). Les pujades de temperatura degudes al canvi climàtic podrien estar proporcionant les condicions idònies en zones d'alta muntanya per al desenvolupament del fong, augmentant la seva virulència i desencadenant mortaldats massives en amfibis.

Quitridiomicosi per *Batrachochytrium salamandrivorans* (Bsal)

Bsal és un fong quitridi patogen que infecta salamandres i tritons (urodels). Va ser identificat per primera vegada el 2013 a causa d'una dramàtica disminució de la població de salamandres (*Salamandra salamandra*) al nord d'Europa (Martel *et al.*, 2013). Les anàlisis realitzades a partir de mostres de teixit epitelial de la salamandra van determinar que es tractava d'una espècie nova del gènere *Batrachochytrium*. A més, les anàlisis moleculars d'ADN han confirmat la seva relació amb el quitridi Bd.

Bsal és originari del sud-est asiàtic, on infecta les salamandres autòctones sense causar greus malalties. Introduït a Europa, probablement amb el comerç d'urodels importats amb el comerç de mascotes, després del primer descobriment als Països Baixos, també s'ha trobat als països veïns (Alemanya i Bèlgica). Ha causat descensos molt greus en les poblacions d'espècies autòctones a les zones on és present. Tenint en compte la seva virulència i el fet que sembla tenir una àmplia gamma d'amfitrions, es tem que pugui devastar les poblacions europees de tritons i salamandres i que pugui tenir un efecte similar a Amèrica del Nord si s'hi introduís on s'ha comprovat experimentalment que provoca la mortalitat d'algunes espècies de tritons i salamandres.

A l'igual que Bd, Bsal causa quitridiomicosi, provoca lesions greus a la pell i resulta letal per a moltes espècies de salamandres i tritons (fig. 6). Bsal té espores amb un sol flagel i una forma resistent d'espóra enquistada que pot sobreviure als períodes secs. Per altra banda els individus que sobreviuen a la malaltia poden estar infectats permanentment i convertir-se en transmis-



Figura 6. Tritons verds morts per quitridiomicosi per Bsal. Els dos exteriors a més colonitzats per fongs oportunistes un cop morts. Foto: Daniel Fernández-Guiberteau.

sors asimptomàtics. El cicle biològic és similar al de Bd, però totes les dades indiquen que Bsal és molt més virulent i que causa una letalitat molt elevada en les espècies sensibles. La temperatura òptima de desenvolupament se situa entre els 10 i 15°C i experimentalment s'ha demostrat que no colonitza la pell de les salamandres a temperatures superiors a 25°C i que pot sobreviure fins els 5°C.

L'any 2017 es va detectar la presència de Bsal en una localitat del Parc Natural del Montnegre-Corredor fet que va aixecar totes les alarmes. Immediatament l'administració del Parc i la Generalitat de Catalunya van engegar els treballs necessaris per aïllar el focus (fig. 7). Està comprovat que l'arribada de Bsal a aquest punt d'aigua va ser produïda per la introducció de dos espècies exòtiques provinents d'aquariofilia: el tritó d'Anatòlia (*Triturus anaticus*) i el tritó alpi (*Ichthyosaura alpestris*), ambdós portadors asimptomàtics (Ferran *et al.* 2020; Martínez-Silvestre *et al.* 2020).

A data d'avui el focus sembla controlat, però els estudis realitzats per Martel *et al.* (2019) fan ser molt curosos amb la gestió del focus ja que



Figura 7. Punt de localització de Bsal aïllat per evitar l'entrada i sortida de possibles agents dispersors de la malaltia. Foto: Daniel Fernández-Guiberteau.

aquest treball ha demostrat que el tritó del Montseny (*Calotriton arnoldi*), espècie en perill crític amb una distribució molt pròxima al focus, mor als pocs dies de ser infectat. Per aquest motiu s'han extremat les mesures de bioseguretat al Parc Natural del Montseny i les anàlisis d'amfibis a tota la zona.

Actualment sabem que Bsal causa una mortalitat molt elevada en la salamandra (*Salamandra salamandra*), en el tritó verd (*Triturus marmoratus*), l'ofegabous (*Pleurodeles waltl*) i en el tritó del Montseny (*Calotriton arnoldi*). S'han detectat positius asimptomàtics a les dues espècies exòtiques esmentades i en el tòtil (*Alytes almogavarii*).

Mesures de mitigació

Moltes han estat les mesures de mitigació o eradicació de la quitridiomicosi que s'han assajat. La bioestimulació i bioteràpia, la cria selectiva, la teràpia tèrmica, la creació de refugis climàtics el control d'hostatgers i hàbitats i fins i tot la recerca sobre vacunes.

La bioestimulació o bioteràpia es fonamenta en el fet que sembla que algunes poblacions d'espècies afectades per la quitridiomicosi no desenvolupen la malaltia. Aquesta resistència podria ser deguda al fet que aquestes poblacions posseeixen una flora bacteriana a la pell diferent de la de les poblacions afectades. Se sap que els bacteris de la flora epidèrmica segreguen uns pèptids que els protegeixen de les infeccions i en aquest cas podia ser la causa de la seva resistència a la quitridiomicosi. Amb aquesta hipòtesi es van fer proves per intentar canviar la flora bacteriana de la pell per tal que les poblacions sensibles incorporessin els bacteris que tenien les poblacions resistents i així veure si s'aconseguia una "immunitat natural" enfront de la quitridiomicosi. Malauradament els resultats no van ser els esperats.

Una de les hipòtesis que va sorgir en la fase inicial de l'episodi de mortalitat va ser la de la cria selectiva. Quan es va produir la mortalitat massiva de tòtils (*Alytes obstetricans*) al massís de Peñalara, van morir la pràctica totalitat dels tòtils de set llacunes. Això va fer pensar que potser els tòtils que van sobreviure tenien immunitat sobre la malaltia amb una base genètica. Amb aquesta idea es va iniciar a Rascafria un projecte de cria en captivitat a partir dels exemplars que havien sobreviscut. Tampoc en aquest cas la hipòtesi es va poder validar ja que els descendents van tenir una mortalitat tan elevada com els afectats inicialment, un cop alliberats a la natura.

Una altra hipòtesi de treball va ser la teràpia tèrmica. Bd es desenvolupa entre els 17 i 25°C de temperatura. Si sotmetem els tòtils infectats a temperatures letals pel fong, però no per al tòtil és fàcil de suposar que el fong i les seves espores moriran. Doncs tampoc en aquest cas els resultats van ser els esperats ja que el fong no només resistia un augment de temperatura a 38°C sinó

que fins i tot la taxa d'infecció va augmentar als individus sotmesos a altes temperatures en comparació al control. El que sí es va veure en el cas del ferreret (*Alytes muletensis*) era que dues poblacions infectades per Bd es comportaven de forma diferent. Mentre una entrava en un progrés declivi, l'altra augmentava el nombre d'individus. Analitzant les poblacions es va comprovar que les poblacions que augmentaven el nombre d'individus estaven sotmeses a variacions de temperatura molt més grans que les que declinaven, les quals tenien temperatures més constants (Dodgington *et al.*, 2013).

Altres estratègies com el control d'hostatgers, reduint el nombre de portadors, la creació de refugis climàtics, és a dir la creació de poblacions on les temperatures fan que el fong no es desenvolupi, l'assecamment de punts d'aigua o l'intent de crear vacunes tampoc donen els resultats esperats. Potser la combinació de diverses teràpies pugui ser efectiva, però ara per ara no es coneix cap solució per a l'eradicació de Bd de forma general.

Només en el cas de l'eradicació de Bd a les poblacions de ferreret (*Alytes muletensis*) infectades i el control i eradicació de Bsal al Parc del Montnegre i el Corredor són els únics exemples d'èxit en la mitigació de la quitridiomicosi (Ferran *et al.*, 2020).

Per aquest motiu en l'àmbit europeu s'ha endurit la legislació per al tràfic d'espècies i s'està fent imprescindible, i esperem que obligatòria, l'aplicació de mesures de bioseguretat per a les activitats al medi.

Bioseguretat

L'augment de la freqüentació humana en el medi natural conseqüència del canvi d'hàbits aquests darrers anys és també una causa de declivi ja que incrementa el nombre d'interaccions amb la fauna. La natura és de tots i per tant tothom té dret a gaudir-ne. Ara bé, això s'ha de fer d'una forma responsable.

El concepte de bioseguretat fa referència al conjunt de mesures sanitàries, de maneig, de disseny, de formació, etc., encaminades a evitar l'entrada o dispersió d'agents infecciosos en el medi natural o a minimitzar-ne la difusió. La bioseguretat són totes les normes i directrius que hem d'aplicar per tal de no transmetre malalties al medi o per tal de no alterar els ecosistemes en els quals fem una activitat de recerca o aprenentatge al medi aquàtic.

Quan un patògen nou arriba a una comunitat, la seva virulència acostuma a ser molt alta atès que el patògen i l'amfibi no han tingut temps de coevolucionar i no han pogut desenvolupar una defensa natural contra aquests patògens. Aquestes malalties que han arribat recentment poden ser introduïdes al medi aquàtic i a la natura en general per l'activitat humana. És per això que hem

de ser curosos i seguir les recomanacions sobre bioseguretat.

Seguir adequadament les normes de bioseguretat ens assegura que podem estar tranquils que nosaltres no som els vectors de les malalties que afecten els organismes aquàtics. En primer lloc hem de desinfectar tot el material que fem servir a les sortides de camp abans i després. Hem de tenir cura en la conservació d'aquest material, emmagatzemar-ho a una sala on assegurem un asseccament complet i a poder ser exposar-lo al sol durant uns dies.

Podem fer diferents tipus de desinfecció, per temperatura 40°C durant 30 min (Aconsellat per a desinfectar roba i calçat), amb alcohol mínim al 70% (Adequat per material de mesura i safates) o amb un desinfectant professional anomenat Virkon® S (adequat per a safates de desinfecció de peus, material de captura, calçat i safates de captura).

La manipulació d'amfibis ha de ser realitzada amb guants de nitril sense pols i a poder ser canviar-los el més sovint possible. De totes maneres la manipulació ha de ser una activitat puntual ja que provoca un estrès innecessari als exemplars.

La manipulació dels amfibis comporta diverses afectacions als exemplars. A més del risc de transmissió de patògens per contacte, hem de tenir en compte que els amfibis són animals que tenen la pell nua recoberta d'un mucos que els ajuda a regular l'intercanvi d'aigua i electrolits. Quan agafem un amfibi amb la mà directament produïm una irritació a la pell, que pot provocar la muda, un increment de temperatura corporal i accelerem la seva dessecació.

Referències

Ayres, C., Rivero-Saeta, A., Domínguez-Costas, M., i Lago-Pazo, D. 2016. First data about the presence of *Dermocystidium*-like in Galicia. XIV Congreso Luso-Español de Herpetología. Abstract book, p. 210.

Ayres, C., Acevedo, I., Monsalve-Carcaño, C., Thumsová, B., i Bosch, J. 2020. Triple dermocystid-chytrid fungus-ranavirus co-infection in a *Lissotriton helveticus*. *European Journal of Wildlife Research*, 66(3).
<https://doi.org/10.1007/s10344-020-01381-2>

Bancroft, B.A., Han, C.L., Searle, L.M., Biga, D.H., Olson, L.B., Kats, J.J., Lawler i Blaustein, A.R. 2011. Species-level correlates of susceptibility to the pathogenic amphibian fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* in the United States. *Biodiversity and Conservation*, 20(9): 1911-1920
<https://doi.org/10.1007/s10531-011-0066-4>

Bargalló, F., Martínez-Silvestre, A., i Fernández, D. 2016. Detección de *Batrachochytrium dendrobatidis* en anfibios asintomáticos en Cataluña. *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*, 27(2): 88-91.

Basanta, M.D. 2019. Ecología y evolución de enfermedades emergentes: una revisión de ranavirus y quitridiomicosi. *Revista Latinoamericana de Herpetología* 2(1): 9-25.
<https://doi.org/10.22201/fc.25942158e.2019.1.74>

Beebee, T.J.C. i Griffiths, R.A. 2005. The amphibian decline crisis: A watershed for conservation biology? *Biological Conservation*, 125: 271-285.

<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.04.009>

Scheele, B.C., Pasmans, F., Skerratt, L.F., Berger, L., Martel, A., Beukema, W., Acevedo, A.A., Burrows, P.A., Carvalho, T., Catenazzi, A., De la Riva, I., Fisher, M.C., Flechas, S.V., Foster, C.N., Frías-Álvarez, P., Garner, T.W.J., Gratwicke, B., Guayasamin, J.M., Hirschfeld, M., Kolby, J.E., Kosch, T.A., la Marca, E., Lindenmayer, D.B., Lips, K.R., Longo, A.V., Maneyro, R., McDonald, C.A., Mendelson, J., Palacios-Rodríguez, P., Parra-Olea, G., Richards-Zawacki, C.L., Rödel, M.O., Rovito, S.M., Soto-Azat, C., Toledo, L.F., Voyles, J., Weldon, C., Whitfield, S.M., Wilkinson, M., Zamudio, K.R. i Canessa, S. 2019. Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity. *Science*. 1459-1463.
<https://doi.org/10.1126/science.aav0379>

Bosch, J., Martínez-Solano, I. 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*, 97: 331-337.
[https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(00\)00132-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(00)00132-4)

Bosch, J. 2003. Nuevas amenazas para los anfibios: enfermedades emergentes. *Munibe*, 16: 56-73.

Bosch, J., Fernández-Beaskoetxea, S., Martín-Beyer, B. 2010. Time for chytridiomycosis mitigation in Spain. A: Genovesi, P. i Scalerà, R. (eds.), *Aliens: The Invasive Species Bulletin*. Newsletter of the IUCN/SSC Invasive Species Specialist Group. Number 30, 2010. ISPRA, Roma. pp. 54-48.

Blaustein, A.R. i Wake, D.B. 1990. Declining amphibian populations: a global phenomenon? *Trends in Ecology and Evolution*, 5: 203-204.
[https://doi.org/10.1016/0169-5347\(90\)90129-2](https://doi.org/10.1016/0169-5347(90)90129-2)

Cunningham, A. A., Langton, T. E.S., Bennett, P. M., Lewin, J. F., Drury, S. E. N., Gough, R. E. i Macgregor, S. K. 1996. Pathological and microbiological findings from incidents of unusual mortality of the common frog (*Rana temporaria*). *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, B Biological Sciences*, 351: 1539-1557.
<https://doi.org/10.1098/rstb.1996.0140>

Doddington, B.J., Bosch, J., Oliver, J.A., Grassly, N.C., Garcia, G., Schmidt, B.R., Garner, T.W. i Fisher, M.C. 2013. Context-dependent amphibian host population response to an invading pathogen. *Ecology*, 94: 1795-1804.
<https://doi.org/10.1890/12-1270.1>

Dopereiro, D. 2019. *Incidencia de una enfermedad emergente de anfibios en Galicia: la infección por dermocistidios en el tritón palmeado* (Lissotriton helveticus). TFG Universidade Da Coruña. 44 pp.

Duffus, A.L.J., Waltzek, T.B., Stöhr, A.C., Allender, M.C., Gotesman, M., Whittington, R.J., Hick, P., Hines, M.K. i Marschang, R.E. 2015. Distribution and Host Range of Ranaviruses. A: M.J. Gray; V.G. Chinchar (Eds.), *Ranaviruses, lethal pathogens to ectothermic vertebrates*, pp. 9-57. Springer International Publishing, New York, USA.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-13755-1_2

Ferran, A., Fernández-Guiberteau, D., Carranza, S., Pannon, P., Picart, M., Martel, A., Pasmans, F., Canessa, S., Argelaga, J., Benet, T., Contreras, A., Ferran, X., Molina, C., Pérez Sorribes, L., Puig, X., Rodríguez, J., Solans, M., Tarragó, A., Yáñez, F.J. i Vila-Escalé, M. 2020. Gestió d'una població d'amfibis del Parc del Montnegre i el Corredor per contenir i eliminar un brot del fong *Batrachochytrium salamandrivorans* (Bsal). *IV Trobada d'Estudiosos de la Serralada Litoral Central i VIII del Montnegre i el Corredor*. Sèrie Territori i Parcs Naturals. Col·lecció Eines, pp. 254-260.

Fibla, M., Ubach, A., Oromi, N., Montero-Mendieta, S., Ca-

- marasa, S., Pascual-Pons, M., Martínez-Silvestre, A., i Montori, A. 2015. Población introducida de tritón alpino (*Mesotriton alpestris*) en el Prepirineo Catalán. *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*, 26(1): 46-51.
- Fisher, M., C., Garner, T.W.J. i Walker, S.F. 2009. Global emergence of *Batrachochytrium dendrobatidis* and amphibian chytridiomycosis in space, time and host. *Annual Review of Microbiology*, 63: 291-310. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.091208.073435>
- Galán, P., i Dopereiro, D. 2017. Infección por dermocistidios (Dermocystida) en una población de *Lissotriton helveticus* de A Limia (Ourense, Galicia). *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*, 28(1): 74-77.
- González-Hernández, M., Denoël, M., Duffus, A. J., Garner, T. W., Cunningham, A.A. i Acevedo-Whitehouse, K. 2010. Dermocystid infection and associated skin lesions in free-living palmate newts (*Lissotriton helveticus*) from Southern France. *Parasitology International*, 59(3): 344-350. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2010.04.006>
- Hernández-López, P., Alarcón D.S. i López-Velázquez., A. 2018. Factores ecológicos que afectan la infección por *Batrachochytrium dendrobatidis* en anfibios de México. A: A. López-Velázquez, M.D. Basanta i L.M. Ochoa-Ochoa (Eds.), *Quitridiomycosis en México*, pp. 53-78. Publicación especial de la Sociedad Herpetológica Mexicana A. C., Ciudad de México, México.
- Houlahan, J.E., Findlay, C.S., Schmidt, B.R., Meyer, A.H. i Kuzmin, S.L. 2000. Quantitative evidence for global amphibian population declines. *Nature*, 404: 752-755. <https://doi.org/10.1038/35008052>
- Hoverman, J.T., Gray, M.J., Haislip N.A., i Miller, D.L. 2011. Phylogeny, life history, and ecology contribute to differences in amphibian susceptibility to ranaviruses. *Eco-Health* 8(3): 301-319. <https://doi.org/10.1007/s10393-011-0717-7>
- Kiesecker, J. M., Blaustein, A. R. i Miller, C. L. 2001. Transfer of a pathogen from fish to amphibians. *Conservation Biology*, 15: 1064-1070. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2001.0150041064.x>
- Longcore, J.E., Pessier, A.P. i Nichols, D.K. 1999. *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia*, 91: 219-227 <https://doi.org/10.1080/00275514.1999.12061011>
- Márquez, R., Olmo, J. L. i Bosch, J. 1995. Recurrent mass mortality of larval midwife toads *Alytes obstetricans* in a lake in the Pyrenean Mountains. *Herpetological Journal*, 5: 287-289
- Márquez, R. i Lizana, M. 2002. Conservación de los Anfibios y Reptiles españoles. A: J. M. Pleguezuelos; R. Márquez i M. Lizana (Eds.) *Atlas y libro rojo de los anfibios y reptiles de España*, pp. 345-383. Dirección general de Conservación de la Naturaleza (MMA)-Asociación Herpetológica Española. Madrid.
- Martel, A., Spitzen-van der Sluijs, A., Blooi, M., Bert ,W., Ducatelle, R., Fisher, M.C., Woeltjes, A., Bosman, W., Chiers, K., Bossuyt, F. i Pasmans, F., 2013. *Batrachochytrium salamandrivorans* sp. nov. causes lethal chytridiomycosis in amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110: 15325-15329. <https://doi.org/10.1073/pnas.1307356110>
- Martel, A., Vila-Escale, M., Fernández-Giberteau, D., Martínez-Silvestre, A., Canessa, S., Van Praet, S., Pannon, P., Chiers, K., Ferran, A., Kelly, M., Picart, M., Piulats, D., Li, Z., Pagone, V., Pérez-Sorribes, L., Molina, C., Tarragó-Guarro, A., Velarde-Nieto, R., Carbonell, F., ... Pasmans, F. 2020. Integral chain management of wildlife diseases. *Conservation Letters*, 13(2): e12707. <https://doi.org/10.1111/conl.12707>
- Martínez-Silvestre, A., Fernandez-Guiberteau, D., Pérez-Sorribes, L., i Velarde, R. 2017. Infección por dermocistidios en *Lissotriton helveticus* en Cataluña: nuevos datos y apuntes sobre su diagnóstico. *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*, 28(2): 66-69.
- Martínez-Silvestre, A., Bosch, J., Marshang, R. i Velarde, R. 2020. Prospecció sanitària dels amfibis de Catalunya: coneixement de la distribució real del fong patògen *Batrachochytrium salamandrivorans*. IV Trobada d'Estudiosos de la Serralada Litoral Central i VIII del Montnegre i el Corredor. Col·lecció Eines. Sèrie Territori i Parcs Naturals. 7: 247-253.
- Montori, A., San Sebastian, O., Franch, M., Pujol-Buxó, E., Llorente, G.A., Fernández-Loras, A., Richter-Boix, A. i Bosch, J. 2019. Observations on the intensity and prevalence of *Batrachochytridium dendrobatidis* in sympatric and allopatric *Epidalea calamita* (native) and *Discoglossus pictus* (invasive) populations. *Basic and Applied Herpetology*, 33: 5-17. <https://doi.org/10.111160/bah.137>
- Ortiz, M.E., Marco, A., Saiz, N.I. i Lizana, M. 2004. Impact of ammonium nitrate on growth and survival of six European amphibians. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 47: 234-239. <https://doi.org/10.1007/s00244-004-2296-x>
- Price, S.J., Garner, T., Nichols, R., Balloux, F., Ayres, C., Mora-Cabello de Alba, A. i Bosch, J. 2014. Collapse of amphibian communities due to an introduced ranavirus. *Current Biology*, 24: 2586-2591. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.09.028>
- Sadinski, W.J. i Dunson, W.A. 1992 A multilevel study of low pH on amphibians of temporary ponds. *Journal of Herpetology*, 26: 413-422. <https://doi.org/10.2307/1565117>
- Stuart, S.N., Chanson, J.S. i Cox, N.A. 2004. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science*, 306: 1783-1786. <https://doi.org/10.1126/science.1103538>
- Teacher, A.G.F., Cunningham, A.A. i Garner, T.W.J. 2010. Assessing the long-term impact of *Ranavirus* infection in wild common frog populations. *Animal Conservation*, 13, 514-522. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2010.00373.x>
- UICN, 2021. The IUCN Red List of Threatened Species. Versión 2019-1. The IUCN Red List of Threatened Species. Versión 2019-1. [Consultat el maig de 2019] [darrer accés 29/03/2021] <https://www.iucnredlist.org>