
Primeros datos sobre la presencia del hongo patógeno de anfibios *Batrachochytrium dendrobatidis* en espacios de interés ecológico del País Vasco

First data about the presence of the amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* in sites of ecological interest of the Basque Country

L. PAZ¹, A. GOSÁ¹, X. RUBIO¹ & J. BOSCH²



En el amplio panorama de las amenazas en las poblaciones de anfibios se ha incluido recientemente el problema de la quitridiomycosis (Bosch, 2003), una enfermedad infecciosa que se está extendiendo rápidamente por todo el planeta (afecta ya a más de 100 países), causando mortalidades en masa y llevando a la extinción a poblaciones e incluso especies de anfibios (Daszack *et al.*, 2003).

En 1997 España pasó a ser el primer país de Europa en el que se detectó la presencia del patógeno (Bosch *et al.*, 2001), al registrarse episodios de mortandades masivas de *Alytes obstetricans* en el Parque Natural de Peñalara. Desde aquel primer brote se han detectado más en otras poblaciones de la Península (Pirineos, Picos de Europa y Zamora), afectando, además, a las especies *Bufo bufo* y *Salamandra salamandra* (Bosch *et al.*, 2006).

El agente causal de esta enfermedad es el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Berger *et al.*, 1998; Longcore *et al.*, 1999), que parasita la epidermis queratinizada de anfibios y las partes bucales de larvas de anuros, y se dispersa en el agua mediante zoosporas sin fase de resistencia.

Hasta el momento la detección de este patógeno mediante técnicas microscópicas y/o moleculares a partir de muestras de tejido de anfibios ha constituido una de las estrategias de diagnóstico más utilizadas (Berger *et al.*, 1999; Boyle *et al.*, 2004).

¹ Sociedad de Ciencias Aranzadi /Zientzia Elkartea. Observatorio de Herpetología. Zorroagaina, 11 • 20014 Donostia - San Sebastián. lpaz@aranzadi-zientziak.org

² Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC José Gutiérrez Abascal 2 • 28006 Madrid

Se piensa que los quitridios podrían desarrollarse en el medio sin la presencia de anfibios a partir de materia en descomposición (Longcore *et al.*, 1999). Con el fin de analizar la epidemiología de *B. dendrobatidis* Walker *et al.* (2007) han desarrollado una técnica que permite detectar el patógeno en el ambiente, fuera de su hospedador, mediante el filtrado de volúmenes relativamente pequeños de agua procedente de los medios acuáticos utilizados por los anfibios y su posterior análisis mediante PCR cuantitativa.

Según los estudios realizados por Bosch (com. pers.) *B. dendrobatidis* estaría ampliamente distribuido por todo el territorio nacional, habiéndose detectado, salvo en Murcia, en todas las demás comunidades autónomas prospectadas. La única comunidad que quedaba por prospectar era el País Vasco.

Con el fin de conocer la distribución del patógeno en el País Vasco e identificar posibles sitios de interés natural susceptibles de sufrir mortalidades masivas de anfibios, se puso en marcha este trabajo de investigación siguiendo la metodología desarrollada por Walker *et al.* (2007).

El muestreo se llevó a cabo en 13 espacios naturales de interés ecológico, distribuidos en un gran rango de altitudes por todo el territorio vasco (figura 1). Dentro



Figura 1.- Espacios naturales muestreados. El límite de color rojo indica dónde se ha detectado hongo quitridio.

Figure 1.- Sampled sites. Red coloured limit shows where chytrid fungus has been detected.

de cada espacio se eligieron entre 1 y 8 puntos de muestreo, intentando abarcar la variabilidad de ecosistemas presente en ellos, contabilizando en total 61 estaciones de muestreo. Los filtrados de agua se realizaron en la amplia gama de hábitats utilizados por los anfibios: charcas, abrevaderos, regatas, embalses, pozas, balsas de riego, canales y turberas.

Con el fin de analizar la posible variabilidad temporal en la detectabilidad del patógeno se decidió repetir tres veces la toma de muestras en cada punto de muestreo, con un intervalo aproximado de dos meses entre uno y otro, desde marzo hasta agosto, para cubrir todos los ciclos de la estación reproductora de los anfibios, desde la entrada de los adultos en el agua hasta la emergencia de los recién metamorfoseados. De esta manera se cubrió igualmente todo el ciclo biológico del hongo, incluido su punto álgido, cuando el número de zoosporas es mayor en el medio. Algunas de las estaciones de muestreo, de carácter temporal, se habían desecado para la visita estival, de forma que en total se recogieron 175 muestras. Al mismo tiempo, se tomaron otras medidas de caracterización del enclave, como temperatura del agua, pH, corriente, turbidez, anfibios presentes en el medio y variables relativas a la vegetación.

Los análisis moleculares, llevados a cabo en el Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC, Madrid y en el Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid, arrojaron tres resultados positivos; es decir, se detectó *B. dendrobatidis* únicamente en tres muestras, correspondientes a: muestreo de primavera en la charca de Miñastu, en la Sierra de Badaia en Araba, muestreo de primavera en la denominada charca número 2 de La Arboleda en Bizkaia, y muestreo de verano en la poza de Arritzaga en el P. N. de Aralar, Gipuzkoa (figura 2). Sin embargo, resultó imposible descartar la presencia de quitridios en aquellas muestras en las que no se había detectado el hongo. El bajo número de positivos obtenidos no ha permitido establecer patrones de abundancia del patógeno en función de las características del medio físico, la identidad, la abundancia de las especies de anfibios presentes o la variación temporal.

Con el presente estudio se constata la presencia del patógeno en el País Vasco, y se establece la necesidad de poner en práctica un plan de vigilancia para detectar a tiempo el hongo, aplicando protocolos preventivos y de actuación ante la posible aparición de focos infecciosos.

AGRADECIMIENTOS

A Conrado Tejado y Elena Potes, del Instituto Alavés de la Naturaleza, y a los guardas forestales de las Diputaciones de Gipuzkoa y Bizkaia, así como a los amigos que nos han ayudado en los muestreos. Al personal del Museo de Ciencias



Figura 2.- Fotos de los enclaves en los que se ha detectado la presencia de quitridio. A: charca de Miñastu (Sierra de Badaia, Araba), B: charca número 2 de La Arboleda (Bizkaia), C: poza de Arritzaga (P. N. de Aralar, Gipuzkoa).

Figure 2.- Sampling points where chytrid fungus has been detected. A: pond in Miñastu (Badaia mountain range, Araba), B: pond no. 2 in La Arboleda (Bizkaia), C: pool in Arritzaga (Aralar Natural Park, Gipuzkoa).

Naturales y del Centro de Investigaciones Biológicas, y a Mathew Fisher y Susan Walker del Imperial College of London, por sus consejos en el análisis de laboratorio. Por último, a la Sociedad de Ciencias Aranzadi y al Dpto. de Ordenación del Territorio y Medio Ambiente del Gobierno Vasco por la financiación.

BIBLIOGRAFÍA

- BERGER, L., SPEARE, R., DASZACK, P., GREEN, D.E., CUNNINGHAM, A.A., GOGGIN, C.L., SLOCOMBE, R., RAGAN, M.A., HYATT, A.D., MCDONALD, K.R., HINES, H.B., LIPS, K.R., MARANTELLI, G. & PARKES, H. (1998). Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95: 9031-6.
- BERGER, L., SPEARE, R. & KENT, A. (1999). Diagnosis of chytridiomycosis in amphibians by histologic examination. *Zoos. Print. J.*, 15: 184-190.
- 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. *Biol. Cons.*, 97: 331-7.
- BOSCH, J. (2003). Nuevas amenazas para los anfibios: enfermedades emergentes. *Suplemento Munibe*, 16: 56-73.
- BOSCH, J. & MARTÍNEZ-SOLANO, I. (2006). Chytrid fungus infection related to unusual mortalities of *Salamandra salamandra* and *Bufo bufo* in the Peñalara Natural Park, Spain. *Oryx*, 40 (1): 84-9.
- BOYLE, D.G., BOYLE, D.B., OLSEN, V., MORGAN, J.A.T. & HYATT, A.D. (2004). Rapid quantitative detection of chytridiomycosis (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in amphibian samples using real-time Taqman PCR assay. *Dis. Aq. Org.*, 60: 141-8.
- DASZACK, P., CUNNINGHAM, A.A. & HYATT, A.D. (2003). Infectious disease and amphibian population declines. *Divers. Distr.*, 9: 141-150.
- LONGCORE, J.E., PESSIER, A.P. & NICHOLS, D.K. (1999). *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia*, 91: 219-227.
- WALKER, S.F., SALAS, M.B., JENKINS, D., GARNER, T.W.J., CUNNINGHAM, A.A., HYATT, A.D., BOSCH, J. & FISHER, M.C. (2007). Environmental detection of *Batrachochytrium dendrobatidis* in a temperate climate. *Dis. Aquat. Org.*, 77 (2): 105-112.

