



Projecte Grafi: aportacions al coneixement sobre biopatologia de les poblacions catalanes de granotes verdes

Daniel FERNÁNDEZ-GUIBERTEAU^{1,2,4}, Ferran BARGALLÓ SAUMELL², Albert MARTÍNEZ-SILVESTRE³, Mònica MIRAS FERRER^{1,2}, Olaia BLANCO VILLALOBOS¹, Josep Maria MOMPART¹

¹ ESCOLA DE LA NATURA DE PARETS. C/Galende 12, 08150-Parets del Vallès.

² SOCIETAT CATALANA D'HERPETOLOGIA. Plaça Leonardo da Vinci, 4-5, Parc del Fòrum, 08019 Barcelona.

³ CRARC. Centre de Recuperació d'Amfibis i Rèptils de Catalunya. Av. Maresme, 45, 08783 Masquefa, Barcelona.

⁴ E.mail: info@guibernatura.com

RESUM

El primer any de recerca sobre les poblacions de *Pelophylax* kl. *grafi* (Crochet, Dubois, Ohler & Tunner, 1995) i *Pelophylax perezii* (López-Seoane, 1885) aporta molta llum sobre la morfologia, biologia i distribució d'aquests taxons.

En aquesta publicació, es donen a conèixer la presència del fong *Batrachochytrium dendrobatidis* i malformacions observades el primer any d'estudi sobre granotes verdes a Catalunya.

PARAULES CLAU: *Pelophylax* kl. *grafi*; *Pelophylax perezii*; Polifalàngia; *Batrachochytrium dendrobatidis*.

ABSTRACT

The first year of research on mixed populations of Graf's Hybrid Frog *Pelophylax* kl. *grafi* (Crochet, Dubois, Ohler & Tunner, 1995) and Iberian Water Frog *Pelophylax perezii* (López-Seoane, 1885) is shedding light on the biology, morphology and distribution of this complex in Catalonia.

We present the presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* and malformations in catalonian green frogs in the first year of study.

KEY WORDS: *Pelophylax* kl. *grafi*; *Pelophylax perezii*; Polyphalangy; *Batrachochytrium dendrobatidis*.

RESUMEN

El primer año de investigación sobre las poblaciones de *Pelophylax kl. grafi* (Crochet, Dubois, Ohler & Tunner, 1995) y de *Pelophylax perezii* (López-Seoane, 1885), aporta mucha luz a la morfología, biología y distribución de estos taxones.

En esta publicación, se dan a conocer la presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* y malformaciones observadas en el primer año de estudio sobre ranas verdes en Cataluña.

PALABRAS CLAVE: *Pelophylax kl. grafi*; *Pelophylax perezii*; Polifalángia; *Batrachochytrium dendrobatidis*.

INTRODUCCIÓ

El projecte Grafi està centrat en aportar coneixements sobre la morfologia, biologia i distribució de *Pelophylax kl. grafi* (Crochet, Dubois, Ohler & Tunner, 1995) i comparar-los amb *Pelophylax perezii* (López-Seoane, 1885) a l'àmbit català.

Des de febrer de 2015, i en un termini de 7 mesos, durant els mostratges als diferents hàbitats on es troben aquestes espècies s'han observat: un cas de malformació i 6 casos de detecció del fong *Batrachochytrium spp.*

No hi ha cap cas publicat de polifalàngia en anurs a la Península Ibèrica, tan sols hi ha un cas descrit en urodels (DIEGO-RASILLA, 2009) i polidactília en *Salamandra salamandra* en (RIVERA et al., 2015) els casos citats més semblants són els de polidactília (DIEGO-RASILLA, 2000; GALÁN, 2011; FERNÁNDEZ, 2013).

La quitridiomicosi, malaltia infecciosa emergent, ha estat identificada com un factor important que contribueix al declivi i l'extinció d'espècies

d'amfibis a nivell mundial (BERGER et al., 1998; DASZAK et al., 2003; LIPS et al., 2006; WALKER et al., 2008; VREDENBURG et al., 2010; CHENG et al., 2011). Aquest fong es va reconèixer primer com un organisme patògen en 1998 (BERGER et al., 1998) i va ser descrit com una espècie de quitridi al 1999 (LONGCORE et al., 1999). Aquest fong quitridi ha estat trobat en tots els continents menys a l'Antàrtida, i se sap que ha afectat a més de 500 espècies d'amfibis a tot el món (FISHER et al., 2009; OLSON et al., 2013).

A la península Ibèrica va ser detectat per primera vegada al Parc Natural de Peñalara al 1997 en *Alytes obstetricans* (BOSCH et al., 2001) des de la data s'han fet estudis de la distribució del fong a una gran part de la península Ibèrica, on s'ha demostrat que aquest fong està àmpliament distribuït, localitzat a l'Aragó, País Basc, Comunitat de Madrid, Extremadura, Andalusia i Comunitat Valenciana.

MATERIAL I MÈTODES

Una de les parts del projecte és l'estudi *ex situ* de la biologia reproductiva de les dues espècies. Aquest estudi s'ha fet a les instal·lacions de l'Escola de la Natura de Parets del Vallès. Per aquest propòsit, han estat capturats 16 exemplars, els quals han passat una etapa de quarantena d'una durada de dues setmanes durant la qual es va fer un examen físic i anàlisis coprològics a tots els individus, per garantir la idoneïtat de tots ells per formar part d'aquest treball.

Uns dels controls ha estat l'obtenció de diferents mostres cutànies amb escovilló, especialment de la zona pèlvica i extremitats, per a la detecció d'agents patògens, mitjançant la tècnica de PCR (fetes a LABOKLIN GmbH&Co.KG), on s'ha analitzat la possible presència de 3 d'ells: el *Batrachochytrium dendrobatidis*, *Batrachochytrium salamandrivorans* i *Ranavirus spp.*

D'altra banda, es va trobar un exemplar amb una malformació a un dit i es va procedir a fer radiografies per estudiar l'abast de la mateixa.

RESULTATS

Malformació dactilar

La malformació es va detectar en una femella adulta de *Pelophylax kl. grafi* amb polifalàngia, en una passera del riu Ser, a Serinyà, comarca

del Pla de l'Estany (Girona). L'anomalia la presentava al dit 1 de l'extremitat anterior esquerra (Fig.1). A la mateixa zona es van capturar més individus i cap tenia anomalies visibles.



Fig. 1 Detall de la polifalàngia a l'extremitat anterior esquerra de l'exemplar de *Pelophylax kl. grafi*

És una malformació esquelètica amb falanges extra en un dit, en aquest cas s'observa la duplicació de la primera i la segona falanges que parteixen d'un mateix metacarp (Fig.3). Cal te-

nir en compte que no és una malformació que sembli que destorbi l'exemplar en el desenvolupament de la seva activitat.



Fig. 2 Radiografia de la polifalàngia (part esquerra de la imatge).

Pel que fa a l'etiologia, es desconeix la causa determinant d'aquesta malformació, i els factors congènits no són els únics desencadenants, ja que pot ser una simple mutació somàtica en al·lels implicats en el desenvolupament. Els factors abiòtics com l'augment de la radiació UV i els alts nivells de pol·lució antropogènica també contribueixen potencialment a l'aparició de malformacions en amfibis. També poden comprometre al sistema immune i deixar-los vulnerables a infeccions (BLAUSTEIN & JOHNSON, 2003; LANNOO, 2009).

Les deformitats en les extremitats posteriors dels amfibis resulten més freqüents, bàsicament perquè el seu desenvolupament està comprès la major part o totalment després de l'eclosió, de

manera que l'extremitat en fase primerenca està exposada al medi aquàtic (paràsits i depredadors) (SESSIONS & BALLENGÉE, 2010).

L'enquistament d'un trematode (*Ribeiroia* sp.) també indueix la malformació d'extremitats supernumeràries, ja que interromp la organització espacial de les cèl·lules i la seva activitat mitòtica en les etapes primerenques del desenvolupament de l'extremitat; seguit d'un fenomen d'intercalació (resposta de creixement del pol·lular característic) que es manifesta a nivell morfològic per membres supernumeraris en orientació d'imatge especular (SESSIONS & BALLENGÉE, 2010). Fenomen coincident amb l'orientació ortogonal entre les dues falanges de la polifalàngia objecte d'estudi.

Primers casos documentats de quitridiomicosi a Catalunya

Les PCR van donar resultat positiu per *Batrachochytrium dendrobatidis* en un total de 6 individus de 4 localitats diferents. Les poblacions que han donat positiu per aquest fong són loca-

litzades al Vallès Oriental, Moianès, Ribera d'Ebre i Montsià.

Aquest és el primer cas de quitridiomicosi documentat a Catalunya.



Mapa: Punts de captura d'exemplars amb positiu a *Batrachochytrium dendrobatidis*

REFERÈNCIES

- ANDRÉ, S.E.; PARKER, J. & BRIGGS, C.J. (2008): Effect of temperature on host response to *Batrachochytrium dendrobatidis* infection in the mountain yellow-legged frog (*Rana muscosa*). *Journal of Wildlife Diseases*, 44(3): 716–720. doi: 10.7589/0090-3558-44.3.716. PMID 18689660.
- BLAUSTEIN, A.R. & JOHNSON, P.T.J. (2003): The complexity of deformed amphibians. *Frontiers in Ecology and Environment*, 1: 87-94.
- 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.
- DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A.A. & HYATT, A.D. (2003): Infection disease and amphibian population declines. *Divers. Distrib.*, 9: 141-150.
- DIEGO-RASILLA, F.J. (2009): Limb abnormalities in the palmate newt, *Lissotriton helveticus* (Caudata: Salamandridae). *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*, 20: 62-63.
- DIEGO-RASILLA, F.J. (2000): Malformaciones en una población de *Triturus marmoratus*. *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*, 11: 88-89.
- ERGER, L.; SPEARE, R.; DASZAK, 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. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95 (15): 9031–6. doi:10.1073/pnas.95.15.9031. PMC 21197. PMID 9671799.
- FERNÁNDEZ, D. (2013): Polidactília en un exemplar de tòtil comú *Alytes obstetricans* (Laurenti, 1768) (Anura, Alytidae), de Monistrol de Montserrat (Bages, Catalunya). *Butlletí de la Societat Catalana d'Herpetologia*, 10: 5-6.
- GALÁN, P. (2011): Anfíbios con malformaciones en el Parque Natural das Fragas do Eume (A Coruña, Galicia). *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*, 22: 65-67.
- LANNOO, M.J. (2009): Amphibian Malformations. Chapter 5. In *Amphibian Biology*, Volume 8: Decline: Diseases, Parasites, Maladies, Pollution. Pp. 3089–3111. Surrey Beatty and Sons, Chipping Norton, Australia.
- LONGCORE, J.E.; PESSIER, A.P. & NICHOLS, D.K. (1999): *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov, a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia* 91(2): 219–227. doi:10.2307/3761366. JSTOR 3761366.
- MARTEL, A.; SPITZEN-VAN DER SLUIJS, A.; BLOOI, M.; BERT, W.; DUCATELLE, R.; FISHER, M.C.; WOELTJES, A.; BOSMAN, W.; CHIERS, K.; BOSSUYT, F.; PASMANS, F. (2013): *Batrachochytrium salamandrivoran* ssp. nov. causes lethal chytridiomycosis in amphibians". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(38): 15325–15329. doi:10.1073/pnas.1307356110. PMC 3780879. PMID 24003137.
- METEYER, C.U. (2000): Field guide to malformations of frogs and toads with radiographic interpretations. *Biological Science Report USGS/BRD/BSR–2000–0005*.
- OUELLET, M. (2000): Amphibian deformities current state of knowledge. 617-661. In: Sparling, D.W. et al (eds.), *Ecotoxicology of Amphibians and Reptiles*. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC) Press. Pensacola, Florida.
- RIVERA, X.; SIMÓN, J.G.; MELERO, J.A.; FERNÁNDEZ-GUIBERTEAU, D. (2015): Bicefàlia i altres casos d'anomalies morfològiques per a *Salamandra salamandra* (Linnaeus, 1758) *Butlletí de la Societat Catalana Herpetologia* 22: 60-65. <https://soccatherp.files.wordpress.com/2015/07/rivera-et-al-segona-troballa-duna-salamandra-comuna-bicc3a8fala-a-badalona.pdf>
- RON, S.R. (2005): Predicting the distribution of the amphibian pathogen *B. dendrobatidis* in the New World. *Biotropica* 37: 209-221.
- SESSIONS, S.K. & BALLENGÉE, B. (2010): Development Deformities in Amphibians. Brandon Ballengée: Malamp, *The Occurrence of Deformities in Amphibians*, Arts Catalyst, London and Yorkshire Sculpture Park, Wakefield, England, pp. 62-72.
- WELDON, C.; DU PREEZ, L.H., HYATT, A.D., MULLER R. & SPEARS, R. (2004): Origin of the amphibian chytrid fungus. *Emerging Infect. Dis.* 10(12): 2100–5. doi:10.3201/eid1012.030804. PMID 15663845.