



Noves aportacions en la distribució de *Batrachochytrium dendrobatidis* a Catalunya

Mònica MIRAS^{1,2}, Daniel FERNANDEZ-GUIBERTEAU^{1,2}, Xavier GARCIA², Ferran BARGALLÓ¹,
Andrea ESPUNY², Oriol BAENA^{1,2}, Alejandro GARCÍA^{1,2} i Joan MALUQUER-MARGALEF¹

¹ SOCIETAT CATALANA D'HERPETOLOGIA. Museu de Ciències Naturals. Plaça Leonardo da Vinci, 4-5, 08019 Barcelona.

² ESCOLA DE LA NATURA DE PARETS. C/Galende 12, 08150 - Paret del Vallès.

RESUM

A ran dels resultats positius en tests de *Batrachochytrium dendrobatidis* (=Bd) realitzats en diverses poblacions de *Pelophylax perezii*, *P. kl grafi* i *Triturus marmoratus* (objecte de projectes de recerca per part de la SCH i de l'Escola de la Natura de Paret del Vallès), es va decidir fer una primera avaluació de l'abast de l'extensió territorial d'aquest fong invasor, a partir del mostreig extensiu per tots els àmbits biogeogràfics catalans, prioritzant de tota manera els àmbits més proclius a manifestar l'activitat del fong (Catalunya oriental humida, prepirineus i Pirineus). Els resultats preliminars donen 3 mostres positives sobre un total de 34 analitzades, es a dir, 8'8% de les mostres analitzades.

PARAULES CLAU: *Pelophylax* sp.; *Batrachochytrium dendrobatidis*; Catalunya.

ABSTRACT

In the course of research projects carried out by the SCH and Escola de la Natura de Paret del Vallès, several populations of *Pelophylax perezii*, *P. kl grafi* and *Triturus marmoratus* give positive to the Bd test. Thus, we decided to do an introductory study to know the geographical extensions of Bd in Catalonia, by collecting samples of all the biogeographical regions, giving priority to the areas more likely to develop the fungus activity (Eastern wet Catalonia, Pre-pyrenees and Pyrenees). The preliminary results give 3 positive samples over 34 populations analysed, so, un 8'8%.

KEY WORDS: *Pelophylax* sp.; *Batrachochytrium dendrobatidis*; Catalonia.

RESUMEN

A raíz de los resultados positivos en el test de Bd por parte de diversas poblaciones de *Pelophylax perezii*, *P. kl grafi* y *Triturus marmoratus* objeto de proyectos de investigación por parte de la SCH y la Escola de la Natura de Paret del Vallès, se decidió hacer una primera evaluación del alcance de la extensión territorial, priorizando las áreas más proclives a manifestar actividad del hongo (Catalunya oriental húmeda, prepirineos y Pirineos). Los resultados preliminares dan 3 muestras positivas sobre un total de 34 analizadas, es decir un 8,8%.

PALABRAS CLAVE: *Pelophylax* sp.; *Batrachochytrium dendrobatidis*; Catalunya.

INTRODUCCIÓ

Batrachochytrium dendrobatidis – *Bd* –, un fong aquàtic zoospòric de l'ordre dels Rhyzopodials, és el causant de la quitridiomicosi, malaltia vinculada a la mortalitat massiva d'amfibis, essent aquest el primer cas en que un quitridi afecta a vertebrats (LONGORE *et al.*, 1999). Donada aquesta situació greu, l'Organització Mundial de la Sanitat Animal (OIE) ha catalogat aquesta infecció com una malaltia de declaració obligatòria. A més, *Bd* està inclòs a la llista de les 100 espècies exòtiques més invasores de la IUCN.

La teoria més probable sobre l'origen de *Bd* és que provingui de Sud-Àfrica, on sembla haver coevolucionat amb espècies natives de la zona, afectant-les de manera asimptomàtica o lleu. La utilització de la granota d'ungles (*Xenopus laevis*) per a proves d'embaràs a partir dels anys 30 i com a animal de laboratori als anys 70, així com el seu comerç com a animal d'aquariofília han propiciat l'expansió del fong a nivell global, ja que es troba a tots els continents excepte l'Antàrtida. La quitridiomicosi ha estat qualificada com la pitjor malaltia infecciosa entre els vertebrats registrada fins al moment en termes de nombre d'espècies impactades i la possibilitat de dur-les a l'extinció o, com a mínim, a delmar poblacions senceres, i ja ha provocat l'extinció de 250 espècies d'amfibis (BERGER *et al.*, 1998; LONGORE *et al.*, 1999; GARNER *et al.*, 2006).

A la península Ibèrica i Europa, les primeres identificacions de *Bd* es van fer el 1997 a partir d'exemplars *Alytes obstetricans*, al Parc Natural de Peñalara (BOSCH *et al.*, 2001) i des de llavors s'han fet estudis sobre la distribució del fong a gran part de la Península Ibèrica que demostren que està àmpliament distribuït, ja que ha estat localitzat, fins ara, a gairebé totes les comunitats autònomes (excepte la Regió de Múrcia, La Rioja i Galícia) (segons web *Bd-Maps* amb dades des de 1999 al 2010 d'Espanya).

A Catalunya, hi ha els següents antecedents documentats:

1. Inicialment, van ser publicades electrònicament unes dades de S. Walker del 2004, a "Global *Bd*-Mapping Project-*Bd*-Maps" (<http://www.bd-maps.net>) de dos positius (del total de dos mostres analitzades) de *Pelophylax perezi* procedents de Riudarenes (La Selva) (vegeu color violeta a Fig. 3 i Taula 1).
2. En el marc del Projecte Grafi, s'ha descrit la presència de *Bd* en sis exemplars de *Pelophylax perezi* i *Pelophylax kl. grafi* de quatre comarques de Catalunya: Vallès Oriental, Moianès, Montsià i Ribera d'Ebre (FERNÁNDEZ-GUIBERTEAU *et al.*, 2016; BARGALLÓ *et al.*, 2016) (vegeu aquests positius en color blau a Fig. 3 i Taula 1).
3. A la primavera de 2015, en el marc del "Projecte Marmoratus", de recuperació del tritó verd a la serralada Litoral, es van detectar dues poblacions positives de *Triturus marmoratus* (MALUQUER-MARGALEF, *et al.*, 2017) al Vallès Oriental i al Moianès, els primers casos positius de *Bd* en amfibis caudats a Catalunya (i que seran objecte d'una propera publicació, actualment en curs).

Davant l'aparent gravetat de la situació, des de la SCH i l'Escola de Natura de Parets del Vallès, es va decidir dur a terme un estudi per tenir un coneixement preliminar sobre l'extensió de *Bd* a Catalunya.

El present projecte té els objectius següents: elaborar un mapa de distribució orientatiu del fong i recollir dades per a futurs estudis relacionats; determinar la presència de focus importants de *Bd* en diverses poblacions autòctones d'amfibis, així com en diferents sistemes aquàtics o cossos d'aigua; valorar l'efecte de la freqüentació humana i/o dels propis herpetòlegs (professionals o bé afeccionats) visitants, en la dispersió del fong.

MATERIAL I MÈTODES

Àrea d'estudi

La presa de mostres de diverses poblacions d'amfibis es va realitzar cobrint el màxim de territori i recollint les diferents zones biogeogràfiques de Catalunya. Les jornades de mostratge s'organitzaven majoritàriament segons uns recorreguts preestablerts per les diferents basses, localitzades virtualment mitjançant l'ICGC i Google Earth, tenint en compte les àrees de distribució dels amfibis, per tal d'optimitzar els esforços de mostratge. En escollir els punts d'aigua a mostrejar, es van considerar alguns aspectes relacionats com: registres previs de *Bd* o sospites sobre la seva presència; prioritjació de mostrejar basses, tot i que també es van considerar afegir torrents petits amb tolles amples i/o fondes, on *Bd* té moltes possibilitats (ja que es manté l'aigua tot l'any); importància de les diferents regions com a llocs d'alta densitat i/o diversitat d'amfibis o com a connectors biològics; zones amb diferents graus de freqüentació i de distància a vies de comunicació principals i amb activitat històrica o actual d'herpetòlegs, naturalistes afeccionats o visitants; com també la susceptibilitat de les diferents espècies a ser infectades per *Bd* segons les seves característiques i biologia, així com el seu estat de conservació.

Procediments metodològics

Les espècies analitzades en aquest estudi van ser preferentment *Alytes obstetricans* i *Pelophylax sp.*, degut a la seva susceptibilitat a *Bd*, d'acord amb treballs previs sobre aquest fong en les seves poblacions de la península Ibèrica. En llocs amb més alçada, es van prendre mostres de *Rana temporaria* per l'abundància més elevada que les altres, ja que pot actuar com a portador o vector de la malaltia amb independència de si es troba afectada. També es va prioritzar individus adults sobre larves, ja que el fong només es trobaria en els discos orals (única part queratinitzada) de la fase larvària dels anurs.

Les captures es van dur a terme des de maig fins l'agost del 2016, coincidint amb la major possibilitat de trobar adults actius. A cada punt de mostratge es va procedir a capturar els individus amb un salabre, es manipulaven amb guants de nitril sense pols d'un sol ús i es procedia a prendre les mostres de forma no invasiva amb un escovilló estèril; posteriorment s'alliberava l'exemplar a la mateixa zona de mostreig.

Cal destacar que a cada punt de mostratge es seguien uns estrictes protocols de bioseguretat per tal d'evitar la propagació del fong i d'altres agents infecciosos entre diferents cossos d'aigua i exemplars, procedint de la següent manera: per cada punt mostrejat hi anava una sola persona, utilitzant un únic "kit de material" (salabre, botes i guants), i en finalitzar el mostreig, tot el material utilitzat es desinfectava amb Virkon® (5g de producte per 1 L d'aigua), submergint-lo o polvoritzant-lo. Per tal d'optimitzar el temps de mostratge al llarg d'una jornada, es portaven diferents "kits de material", per tal d'utilitzar-ne un a cada punt sense haver de desinfectar *in situ*.

A més, es registraven altres paràmetres de la unitat de mostreig com ara la temperatura, tipus de bassa, accessibilitat humana i de fauna, recobriment de la vegetació i penetració de la llum, cossos d'aigua naturals o artificials, entre d'altres.

Pel que fa a la presa de mostres, si es capturava un individu adult (post-metamòrfic) es passa l'escovilló estèril de 3 a 5 vegades per la cara interior de les extremitats, les membranes interdigitals, la superfície ventral i la zona pèlvica (llocs coneguts de predilecció per infectar del fong) (Figura 1), segons la bibliografia. En cas de capturar una larva, s'insertaria un escovilló estèril de punta fina a l'aparell bucal (disc oral) fregant-lo diverses vegades dins la cavitat (Figura 2). Posteriorment, aquests escovillons es retolaven (data, UTM, espècie) i es conservaven en fred fins que es portaven a analitzar.



Figura 1 i 2: Fig 1 (esquerra), presa de mostres en exemplars adults i metamòrfics. Figura 2 (dreta) presa de mostres als discos orals de les larves. Les mostres eren analitzades mitjançant la tècnica de PCR (Reacció en Cadena de la Polimerasa) al laboratori LABOKLIN GmbH & Co. KG (Bad Kissingen, Alemanya), on es determina la presència o absència de *Bd* de les mostres enviades.

RESULTATS I DISCUSSIÓ

Mitjançant l'anàlisi de 34 mostres preses a diferents espècies d'amfibis en un període de 4 mesos (maig - agost), s'ha pogut comprovar la presència de *Bd* a 3 dels punts d'aigua analitzats, es a dir, una estima de localitats catalanes afectades d'un 8,82%. Val a dir que aquesta dada és una primera aproximació i que la mateixa metodologia prenent una mostra més gran d'individus analitzats per a cada localitat i/o punt de mostreig, podria fer augmentar aquest valor (Jaime Bosch, com pers.), però donat els elevats costos de les analítiques pertinents i atès que totes les despeses van ser assumides per la promotora de l'estudi, aquesta opció va haver de ser desestimada.

Les espècies utilitzades per l'anàlisi han estat *Pelophylax perezi*, *Pelophylax kl. grafi*, *Alytes obstetricans* i *Rana temporaria*, i només en les dues primeres s'han obtingut resultats positius per la presència de *Bd*: un positiu al Prepirineu exterior, a la comarca del Solsonès i un a la Catalunya oriental humida (Osona), de *Pelophylax perezi*; i un tercer positiu a la Serralada Litoral, comarca del Vallès Oriental, de *Pelophylax kl. grafi*.

Cal destacar que cap dels exemplars presentaven signes aparents de quitridiomicosi

com letargia, posició del cos anormal o pèrdua de reflexes (BERGER *et al.*, 1998; NICHOLS *et al.* 2001), eren asimptomàtics; tampoc es van trobar individus morts, ni morts massives durant els mostratges.

En aquest primer estudi preliminar a nivell català, no s'ha pogut establir un patró biogeogràfic ni ecològic amb les mostres obtingudes; tampoc tenim prou evidències per relacionar les mostres positives amb un nivell de freqüentació més o menys elevat, tant de públic general com d'herpetòlegs i/o pescadors.

El caràcter extensiu d'aquest estudi i la reduïda mostra analitzada no permeten saber si a l'entorn dels punts positius detectats hi ha altres poblacions afectades; només una primera aproximació estadística sobre la presència de focus importants de *Bd* en les masses d'aigua i poblacions d'amfibis de Catalunya, que podem estimar entre el 5 i el 10% del total. D'altra banda, en base a aquest estudi i a les mostres positives trobades en altres projectes, podem afirmar la presència de *Bd* a, almenys, les comarques següents: Solsonès, Osona, Vallès Oriental, Moianès, Montsià, Ribera d'Ebre i la Selva (Figura 3).

Tot i que la quitridiomicosi ha causat mortalitat en massa d'amfibis, fins i tot extincions, a nivell mundial, en les localitats del territori català que han donat resultats positius a la presència de *Bd* sembla que aquest fong està present sense un aparent efecte patògen en les poblacions d'amfibis. Però calen més estudis per determinar si és aquest el cas, o té efectes que passen més inadvertits com la disminució de la fecunditat o la longevitat, o del reclutament.

Hi ha molts factors que poden influir en els resultats, com per exemple que els individus es trobin en les etapes inicials de la malaltia, o per les mudes successives que pateixen quan es troben infectats (HIATT *et al.* 2007); o bé per la presència d'algunes espècies de la flora bacteriana pròpia a l'epidermis dels amfibis, que produeixen substàncies antibiòtiques possibles inhibidores del creixement de *Bd* (HARRIS *et al.*, 2006) o la possible presència de pèptids segregats per les glàndules de la pell amb el mateix efecte (ROLLINS-SMITH *et al.*, 2002); com també la virulència de la soca de *Bd* present al territori (BERGER *et al.*, 2005). També es podrien haver donat falsos negatius degut a la presència de possibles inhibidors o contaminants, que disminueixen la sensibilitat alhora d'aplicar la PCR.

D'altra banda, la presència del fong al territori català posa en perill les seves poblacions d'amfibis, especialment les d'alta muntanya i les d'àmbit geogràfic reduït (com l'espècie endèmica *Calotriton arnoldi*). Malgrat que no s'han verificat casos de mortalitats massives atribuïbles a *Bd*, aquests tipus d'episodis podrien donar-se en un futur proper, a causa de les condicions climàtiques idònies de l'alta muntanya catalana i el grau d'extensió del fong en territori català.

Hi ha prou evidències per suggerir que *Bd* es propaga mitjançant accions humanes, com el comerç internacional d'amfibis tant pel consum humà, com per la terrariofilia, ús científic, fins i tot pel comerç d'esquers i aquariofilia; totes aquestes activitats tenen el potencial per moure zoòspores del fong, adults i larves d'amfibis infectats a noves àrees. El canvi climàtic també influeix indirectament, ja que les espècies canvien llavors la seva distribució i poden portar agents patògens, com el quitridi, a noves zones on anteriorment no es podien desenvolupar. D'aquí la importància de seguir rigorosament els protocols de bioseguretat, i per no actuar nosaltres mateixos com vectors de dispersió, hem d'actuar com si totes les masses d'aigua estiguessin infectades per *Bd*.

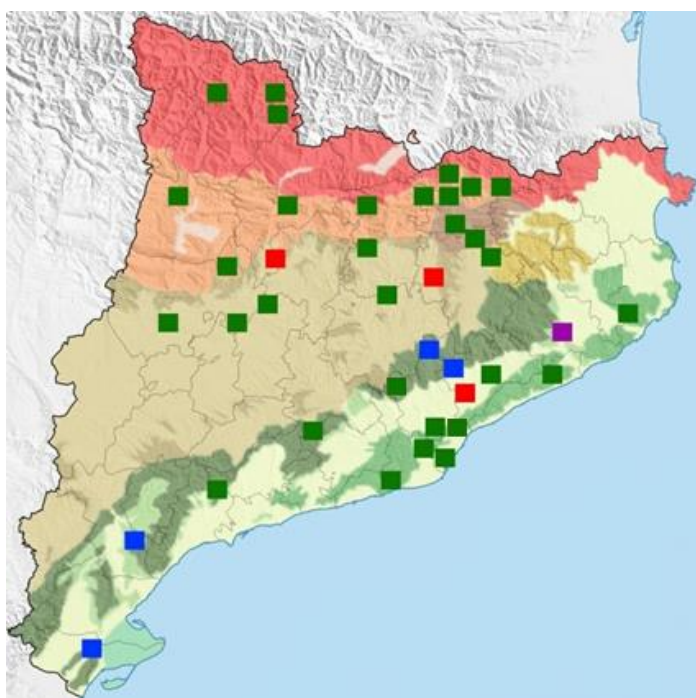


Figura 3.- Punts mostrejats a Catalunya (vegeu llistat de les localitats en Taula 1):

Verd: Resultats negatius (inèdits del present estudi).

Vermell: Resultats positius (inèdits del present estudi).

Blau: Positius en FERNÁNDEZ-GUIBERTEAU *et al.*, 2016.

Violeta: Positiu "Global Bd-Mapping Project - Bd-Maps".

Any	Espècie	Localitat	Resultat
2014	<i>Pelophylax perezi</i>	Mas de Barberans	2 POSITIUS
2014	<i>Pelophylax perezi</i>	Garcia	1 POSITIU
2014	<i>Pelophylax perezi</i>	Sant Feliu de Codines	1 POSITIU
2014	<i>Pelophylax perezi</i>	Castellterçol	2 POSITIUS
2004	<i>Pelophylax perezi</i>	Riudarenes	2 POSITIUS
2016	<i>Rana temporaria</i>	Camprodon (Pla d'en Plata)	NEGATIU
2016	<i>Rana temporaria</i>	Camprodon (Pla Bonaire)	NEGATIU
2016	<i>Rana temporaria</i>	Pardines	NEGATIU
2016	<i>Rana temporaria</i>	Vilallonga de Ter	NEGATIU
2016	<i>Rana temporaria</i>	Espot (Estany de Ratera)	NEGATIU
2016	<i>Rana temporaria</i>	Àreu (Alins) Socalma de Sotllo (2128m)	NEGATIU
2016	<i>Rana temporaria</i>	Àreu (Alins) Plans de Sotllo (2186m)	NEGATIU
2016	<i>Pelophylax perezi</i>	Cambrils (Odèn)	NEGATIU
2016	<i>Pelophylax perezi</i>	Montpol (Lladurs)	POSITIU
2016	<i>Pelophylax perezi</i>	Pinell de Solsonès	NEGATIU
2016	<i>Pelophylax sp.</i>	Clariana de Cardener	NEGATIU
2016	<i>Alytes obstetricans</i>	Isona i Conca Dellà (Bonrepòs)	NEGATIU
2016	<i>Pelophylax sp. (cf. grafi)</i>	Artesa de Segre (Folquer)	NEGATIU
2016	<i>Rana temporaria</i>	Ribes de Freser	NEGATIU
2016	<i>Pelophylax sp.</i>	Vallfogona del Ripollès (El Pinós)	NEGATIU
2016	<i>Pelophylax sp. (cf. grafi)</i>	Vallcebre	NEGATIU
2016	<i>Pelophylax perezi</i>	Sant Bartomeu del Grau	POSITIU
2016	<i>Pelophylax perezi</i>	Sant Pere de Torelló (larves bassa)	NEGATIU
2016	<i>Pelophylax perezi</i>	Sant Pere de Torelló (pas canadenc)	NEGATIU
2016	<i>Pelophylax kl grafi</i>	La Roca del Vallès	POSITIU
2015	<i>Alytes obstetricans</i>	Barcelona (Creueta del Coll)	NEGATIU
2015	<i>Alytes obstetricans</i>	Gallecs (Mollet del Vallès)	NEGATIU
2015	<i>Pelophylax perezi</i>	Vacarisses	NEGATIU
2016	<i>Pelophylax sp. (cf grafi)</i>	Pantà Vallvidriera	NEGATIU
2016	<i>Alytes obstetricans</i>	Barcelona (camí St Cebrià)	NEGATIU
2016	<i>Alytes obstetricans</i>	Barcelona (Font Martí-Codolar)	NEGATIU
2016	<i>Alytes obstetricans</i>	Palafolls	NEGATIU
2016	<i>Pelophylax kl grafi</i>	Girona ciutat	NEGATIU
2016	<i>Pelophylax perezi</i>	Montblanc	NEGATIU
2016	<i>Pelophylax sp (cf grafi)</i>	L'Avellà (Font-Rubí)	NEGATIU
2016	<i>Pelophylax perezi</i>	Begues	NEGATIU
2016	<i>Pelophylax perezi</i>	Navàs	NEGATIU
2016	<i>Pelophylax perezi</i>	Oliola (Claret-Meravella)	NEGATIU
2016	<i>Pelophylax perezi</i>	Artesa de Segre (El Gos)	NEGATIU

Taula 1: Anàlitzes PCR realitzades des de l'any 2014 a l'any 2016, amb resultats positius en vermell i negatius en verd. S'han afegit a la part superior de la taula, els resultats positius en *Bd* a Catalunya, publicats fins ara: en color blau els casos publicats en FERNÁNDEZ-GUIBERTEAU *et al.*, 2016 i BARGALLÓ *et al.*, 2016, i en color violeta els positius de "Global *Bd*-Mapping Project - *Bd*-Maps".

REFERÈNCIES

- BARGALLO, F.; MARTINEZ-SILVESTRE, A. & FERNANDEZ-GUIBERTEAU, D. (2016): Detecció de *Batrachochytrium dendrobatidis* en anfibios asintomáticos en Cataluña. *Boletín Asociación Herpetológica Española*, 27(2): 88-91.
- BERGER, 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.
- BERGER, L.; MARANTELLI, G.; SKERRATT, L.F. & SPEARE, R. (2005): Virulence of the amphibian chytrid fungus, *Batrachochytrium dendrobatidis*, varies with the strain. *Diseases of Aquatic Organisms* 68:47-50.
- 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.
- FERNANDEZ-GUIBERTEAU, D.; BARGALLÓ, F.; MARTÍNEZ-SILVESTRE, A.; MIRAS, M.; BLANCO, O.; MOMPART, J.M. (2016): Projecte Grafi: aportacions al coneixement sobre biopatologia de les poblacions catalanes de granotes verdes. *Butlletí de la Societat Catalana d'Herpetologia* 23: 39-43.
- GARNER, T. W. J.; PERKINS, M. W.; GOVINDARAJULU, P.; SEGLIE, D.; WALKER, S.; CUNNINGHAM, A. A. AND FISHER, M.C. (2006): The emerging amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* globally infects introduced populations of North American bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Biology Letters* 2: 455–459.
- HARRIS, R.N.; JAMES, T.Y.; LAUER, A.; SIMON, M.A. & PATEL, A. (2006): Amphibian Pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* Is Inhibited by the Cutaneous Bacteria of Amphibian Species. *EcoHealth* 3: 53–56.
- HYATT, A.D.; BOYLE; OLSEN; BOYLE; BERGER; OBENDORF; DALTON; KRIGER; HERO; HINES; PHILLOTT; CAMPBELL; MARANTELLI; GLEASON & COLLING (2007): Diagnostic assays and sampling protocols for the detection of *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Diseases of aquatic organisms* 73: 175-192.
- 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.
- MALUQUER-MARGALEF, J.; FERNÁNDEZ-GUIBERTEAU, D.; MIRAS, M.; BARGALLÓ, F. I RIVERA, X. (2017): El projecte de recuperació del tritó verd (*Triturus marmoratus*) a la Serralada Litoral (2010-2015). III *Trobada d'Estudiosos de la Serralada Litoral Central i VI del Montnegre i el Corredor, 19 i 20 de novembre de 2015. Diputació de Barcelona Sèrie Territori i Parcs Naturals*, 2: 226-235.
- NICHOLS, D.K.; LAMIRANDE, E.W.; PESSIER, A.P. & LONGCORE, J.E. (2001): Experimental transmission of cutaneous chytridiomycosis in dendrobatid frogs. *Journal of Wildlife Diseases* 1(37): 1-11.
- OBÓN, E.; CARBONELL, F.; VALBUENA-URENA, E.; ALONSO, M.; LARIOS, R.; FERNÁNDEZ-BEASKOETXEA, S.; FISHER, M. C. & BOSCH, J. (2013): Chytridiomycosis surveillance in the critically endangered Montseny brook newt, *Calotriton arnoldi*, northeastern Spain. *Herpetological Journal*, 23 (4): 237-240.
- ROLLINS-SMITH, L.A.; DOERSAM, J.K.; LONGCORE, J.E.; TAYLOR, S.K.; SHAMBLIN, J.C.; CAREY, C. & ZASLOFF, M.A. (2002): Antimicrobial peptide defenses against pathogens associated with global amphibian declines. *Dev. Comp. Immunol.* 26: 63–72.
- 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.62-72pp.
- 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.