

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA



Facultad de Ciencias
Naturales y Museo

Tesis Doctoral

**Estudio de quitridiomycosis por
Batrachochytrium dendrobatidis en anfibios anuros
del Litoral, Cuyo y Patagonia Argentina**

Doctoranda: Lic. Romina Ghirardi
Directora: Dra. Mónica M. Steciow
Codirectora: Dra. Ma. Gabriela Perotti

2011

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA



**Facultad de Ciencias
Naturales y Museo**



TESIS DOCTORAL

**Estudio de quitridiomycosis por
Batrachochytrium dendrobatidis en anfibios anuros
del Litoral, Cuyo y Patagonia Argentina**

**Romina Ghirardi
Doctoranda**

**Dra. Mónica M. Steciow
Directora**

**Dra. Ma. Gabriela Perotti
Codirectora**

2011

“Lo que sabemos es una gota de agua, lo que ignoramos es el océano”
(Isaac Newton)

*... Hoy quiero presentarles mi gota de agua, para que poco a poco,
entre todos,
vayamos llenando el océano de saberes ...*

“Si he llegado tan lejos, fue porque me he subido a hombros de gigantes ¹”
(Isaac Newton)

Y es por eso que quiero agradecer a todos los Gigantes que me permitieron pararme sobre sus hombros...

En primer lugar a mis directoras Ma. Gabriela Perotti y Mónica M. Steciow, porque sin subirme a sus hombros confiados, confiables, seguros... no hubiera podido llegar hasta acá. Por confiar en mi a la distancia sin prejuicios y dejar que me quede *en casa*.

A Gaby, por su incondicional presencia y apoyo, su manera clara y directa de hacerme ver las cosas y su sinceridad. Por hacerme fácil el trabajo en todo momento en base a su paciencia infinita y su seguridad plena. ¡Gracias Gigante!

A Moni, por su inquebrantable empuje y entusiasmo, su optimismo constante y su gran consejo para plantear los sitios de muestreo: “pensá como hongo... si fueras hongo... ¿dónde te gustaría estar?” ¡Gracias Gigante!

A Javi y Sofi, la razón de mi despertar cada mañana... de mis risas cotidianas... *mi lugar perfecto en el mundo*...

A Javi, gigante que me cargó sobre sus hombros y me mostró un lugar privilegiado en el mundo, mi lugar, *nuestro lugar*... para seguir... a veces caminando sola... y a veces sobre sus hombros... compartiendo un proyecto... compartiendo la vida... ¡Gracias Gigante!

A Sofi, diminuto Gigante que en el medio de este torbellino de ideas empezó a latir... a crecer... a vivir... a brillar... para iluminar nuestra vida más que el sol... ¡te esperamos Pequeño Gigante!

A mi familia de *dos patas*, los Ghirardi y los López.

La que no se elije, que toca... pero que elegiría sin dudar un instante: los Gigantes Papá Carlitos, Mamá Marta y Hermano Nico.

La que si se elige...: los Gigantes Ge, Su, Mariana, Lea, Diego y Claudia.

Su empuje, ayuda e interés en cada etapa de este trabajo lo transformó en algo ameno, divertido, apasionante... en una aventura que merece ser contada... ¡Gracias Gigantes!

A mis primos y amigos, hermanos por elección, siempre presentes con su apoyo y compañía a pesar de mis ausencias... ¡Gracias Gigantes!

A mi familia de *cuatro patas*, que han sido o son parte de mi vida confirmando mi amor y admiración por la naturaleza con cada una de sus divertidas aventuras: Andy, Gorrión, Gurito, Pipi y Lulú; Tortu; Cenere, Rigatta y Manuelita; Uma y Rofo.

A Pablito, gigante *amigo*, gigante consejero, gigante compañero, gigante colega... ¿que tienen sus hombros que subir es conocer... es admirar... es sorprenderse...? ¡Gracias Gigante!

A Carolina Antoniazzi, Diego Fállico, Blas Fandiño y Leandro Negro por compartir el laboratorio, campañas y asados, y convertir cada jornada de trabajo en una *charla de amigos*... ¡Gracias Gigantes!

¹ Frase de Bernardo de Chartres (s.XII) (Original: *Somos como enanos a los hombros de gigantes. Podemos ver más, y más lejos que ellos, no por alguna distinción física nuestra, sino porque somos levantados por su gran altura*). La misma se hizo conocida debido a que la cita (con modificaciones) Isaac Newton en una carta que envió a Robert Hooke el 5 de febrero de 1675 y que se ha usado como una excelente caracterización del proceso colectivo de construcción del conocimiento científico.

A los gigantes Lorena Quiroga y Eduardo Sanabria, amigos y colegas que me demostraron que siempre se pueden alcanzar los objetivos si hay amor, perseverancia y responsabilidad por el trabajo... ¡Gracias Gigantes!

A Mercedes Marchese y Pablo Collins, directora y vice director del Instituto Nacional de Limnología (Santa Fe), y a Marta Cabello y Angelica Arambarri, ex y actual directoras del Instituto de Botánica Spegazzini (La Plata), por abrirme las puertas de los Institutos y por confiar en mí y dejar que me quede en casa.

A Elena Córdoba y Lucrecia Valdeneu por sus estimulantes risas, su alegría continua y su ayuda desinteresada.

A todo el personal del Instituto Nacional de Limnología, por hacerme sentir parte de una *gran familia*.

Al Médico Veterinario Carlos Peralta (Q.E.P.D.) (FAVE-UNL), un apasionado por la enseñanza que me mostró todo lo necesario para empezar a recorrer sola el camino de la histología... “no tengo paciencia para ser científico y estar dos años con una investigación... yo te enseño... te ayudo... te presto... y a mí contame directamente los resultados...” decía.

Al personal del Grupo de Estudio Sobre Energía (GESE-UTN-FRSF) y de la Cruz Roja Argentina Filial Santa Fe por considerar mis ausencias cuando debía priorizar el trabajo de Tesis.

A los Gigantes que han colaborado en las campañas alrededor del país y en la elaboración de este manuscrito de diversas maneras: Ma. Luz Arellano, Diego Barrasso, Julián Lescano, Mauricio Akmentis, Marcelo Bonino, Cynthia Gonzalez, Rodrigo Cajade, Nicolás Frutos, Sebastián Barrionuevo, Diego Baldo, Federico Marangoni, Juan Martín Ferro, Valeria Corbalán, Carmen Úbeda, Ma. Elena Cuello.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas por promover la formación y especialización de recursos humanos a través de becas de postgrado, mi agradecimiento y reconocimiento a su labor y visión.

A las diversas instituciones y personas que facilitaron el trabajo mediante el préstamo de ejemplares de colecciones, otorgamiento de permisos y realización de diversos análisis: Museo Provincial de Ciencias Naturales “Florentino Ameghino” (Santa Fe), Museo de Ciencias Naturales de La Plata, Centro Regional Universitario Bariloche, Delegación Regional Patagonia de Parques Nacionales (PN Nahuel Huapi y PN Laguna Blanca), Médico Veterinario Michael Levy (Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad de Carolina del Norte).

ÍNDICE GENERAL

Resumen	1
Abstract	5
CAPITULO I	
INTRODUCCIÓN	
Declinación global de anfibios.	9
Causas de declinación: la aparición de enfermedades emergentes	12
Origen de <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> en el mundo	16
Bibliografía citada	21
CAPITULO II	
PRESENCIA DE <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> EN ESPECIES DE ANUROS AUTÓCTONAS DE ARGENTINA	
Introducción	29
Justificación y Objetivos	33
Metodología	
Selección de ejemplares y toma de muestras	34
Análisis de las muestras	36
Resultados	38
Región Litoral fluvial	42
Región Noroeste	44
Región de Cuyo	45
Región Patagónica	48
Discusión	
<i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> en especies de anuros nativas de Argentina	51
<i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> en las distintas regiones de Argentina	56
Presencia de <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> y áreas protegidas	58
Bibliografía citada	60
CAPITULO III	
POSIBLES VECTORES DE <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i>: EL CASO DE LA RANA TORO NORTEAMERICANA (<i>Lithobates catesbeianus</i>; Anura: Ranidae)	
Introducción	67
Justificación y Objetivos	73
Metodología	74
Resultados	
Registros de <i>Lithobates catesbeianus</i> en el país	77
Presencia de <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> en la rana toro	80
Discusión	84
Origen de la ranicultura en Argentina y presencia de <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> en criaderos	84
Poblaciones asilvestradas de rana toro en Argentina	86
Posible impacto de la poblaciones asilvestradas de <i>Lithobates catesbeianus</i>	88

Quitridiomycosis y rana toro	90
Bibliografía citada	93
CAPITULO IV	
PREDICCIÓN DE NICHO POTENCIAL DE <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> EN ARGENTINA	
Introducción	97
Justificación y Objetivos	101
Metodología	102
Resultados	
El mapa	106
Variables ambientales	112
Discusión	
El mapa	122
Variables ambientales	126
Relación entre las variables ambientales y <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> . . .	129
Bibliografía citada	132
CAPITULO IV	
DISCUSIÓN FINAL Y CONCLUSIONES	137
Recomendaciones vinculadas a protocolos para manejo y conservación de anfibios	
A nivel Internacional	139
Recomendaciones en Argentina	141
Bibliografía citada	147

ÍNDICE DE TABLAS

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

Tabla 1. Factores causantes de la declinación de anfibios reconocidos a nivel mundial	10
Tabla 2. Año del registro más antiguo de <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> en las diferentes regiones del mundo	19

CAPITULO II

PRESENCIA DE *Batrachochytrium dendrobatidis* EN ESPECIES DE ANUROS AUTÓCTONAS DE ARGENTINA

Tabla 1. Registros de presencia de <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> en anfibios de Argentina	32
Tabla 2. Ejemplares analizados por región y técnica utilizada	38

CAPITULO III

POSIBLES VECTORES DE *Batrachochytrium dendrobatidis*: EL CASO DE LA RANA TORO NORTEAMERICANA (*Lithobates catesbeianus*; ANURA: RANIDAE)

Tabla 1. Origen de los ejemplares de <i>Lithobates catesbeianus</i> analizados	74
Tabla 2. Localidad de los establecimientos de ranicultura en Argentina	77
Tabla 3. Registros de poblaciones asilvestradas de rana toro en Argentina	78
Tabla 4. Ejemplares de <i>L. catesbeianus</i> analizados por provincia e infección por <i>Bd</i>	80

CAPITULO IV

PREDICCIÓN DE NICHOPOTENCIAL DE *Batrachochytrium dendrobatidis* EN ARGENTINA

Tabla 1. Registros de <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> infectando anfibios anuros en Argentina	102
Tabla 2. Variables ambientales utilizadas para la elaboración de los modelos	103
Tabla 3. Número de puntos de registro de <i>Bd</i> utilizados para modelado y validación	106
Tabla 4. Valor de AUC para cada réplica del modelado	107
Tabla 5. Condiciones ambientales para todas las localidades de presencia de <i>Bd</i>	113
Tabla 6. Contribución porcentual de cada variable al modelo	115
Tabla 7. Cuatro primeros ejes del Análisis de Componentes Principales (ACP) de las variables ambientales para los 1000 puntos al azar y los 93 puntos de registro de <i>Bd</i>	116
Tabla 8. Cuatro primeros ejes del Análisis de Componentes Principales (ACP) de las variables ambientales para los 93 puntos de registro de <i>Bd</i>	118

ANEXOS

Tabla 1. Datos completos de ejemplares de especies nativas estudiadas	149
Tabla 2. Resultado del índice de solapamiento (IS) de cada uno de los puntos de registro de <i>Bd</i> en los mapas de salida del modelado	166

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPITULO II

PRESENCIA DE *Batrachochytrium dendrobatidis* EN ESPECIES DE ANUROS AUTÓCTONAS DE ARGENTINA

Figura 1. Sitios donde se realizaron los muestreos en Argentina	41
Figura 2. Detalle de los sitios de muestreo en la región del Litoral fluvial	42
Figura 3. Ejemplar de <i>Hypsiboas pulchellus</i> positivo para <i>Bd</i>	43
Figura 4. Detalle de los sitios de muestreo en la región del Noroeste argentino	44
Figura 5. Detalle de los sitios de muestreo en la región de Cuyo	45
Figura 6. Corte histológico de <i>L. latrans</i> de la Provincia de San Juan	46
Figura 7. Detalle de la mancha oscura ventral en el ejemplar de <i>A. pehuenche</i> de Mendoza	47
Figura 8. Detalle de los sitios de muestreo en la región Patagónica	48
Figura 9. Corte histológico de <i>A. patagonicus</i> del PNLB	49
Figura 10. Ejemplares de <i>A. patagonicus</i> moribundos y muertos encontrados en el PNLB	49
Figura 11. Detalle de la coloración de las estructuras bucales de <i>H. andinus</i>	50
Figura 12. Corte longitudinal del pico corneo de <i>H. riojanus</i>	50

CAPITULO III

POSIBLES VECTORES DE *Batrachochytrium dendrobatidis*: EL CASO DE LA RANA TORO NORTEAMERICANA (*Lithobates catesbeianus*; ANURA: RANIDAE)

Figura 1. Ubicación de los criaderos registrados hasta el año 2001	79
Figura 2. Coloración de las estructuras bucales de una larva de <i>L. catesbeianus</i> proveniente de una población asilvestrada de Córdoba	80
Figura 3. Corte histológico de un juvenil de <i>L. catesbeianus</i> proveniente de una población asilvestrada de Buenos Aires	81
Figura 4. Ejemplares de <i>L. catesbeianus</i> con manchas y ulceraciones en la región ventral del abdomen	82
Figura 5. Sección de la piel infectada por <i>Bd</i> de <i>L. catesbeianus</i> de un criadero de la provincia de Santa Fe	83

CAPITULO IV

PREDICCIÓN DE NICHOPOTENCIAL DE *Batrachochytrium dendrobatidis* EN ARGENTINA

Figura 1. Curva ROC	107
Figura 2. Mapas del modelado elaborados en base a las 10 corridas	
2a) <i>Bd_min</i>	108
2b) <i>Bd_median</i>	109
2c) <i>Bd_max</i>	110
Figura 3. Test de Jackknife sobre la importancia de las variables ambientales	114
Figura 4. Ejes I y II de ACP de las 20 variables ambientales en los 1000 puntos al azar	117
Figura 5. Ejes I y II de ACP de las 20 variables ambientales en los 93 puntos de presencia de <i>Bd</i>	119

Figura 6. Caracterización ambiental de Argentina en función a la Precipitación Anual y la Temperatura Media Anual	120
Figura 7. Caracterización ambiental de Argentina en función a la Elevación y la Temperatura Media Anual	120
Figura 8. Caracterización ambiental de Argentina en función a la Temperatura Mínima en el Mes más Frío y la Temperatura Máxima en el Mes más Cálido	121
Figura 9. Caracterización ambiental de Argentina en función a la Precipitación en el Mes más Húmedo y la Precipitación en el Mes más Seco	121
ANEXOS	
Sitios de muestreo de especies nativas en las distintas regiones estudiadas	
Figura 1. Corrientes	169
Figura 2. Misiones	169
Figura 3. Santa Fe	170
Figura 4. Jujuy	170
Figura 5. La Rioja	171
Figura 6. San Juan	171
Figura 7. Mendoza	172
Figura 8. Neuquén	172
Figura 9. Río Negro	173
Figura 10. Santa Cruz	173
Figura 11. Sitios de muestreo de <i>Lithobates catesbeianus</i>	174
Figura 12. Ejemplares de <i>Lithobates catesbeianus</i> colectados en San Juan	175
Variables ambientales utilizadas para la elaboración de los modelos	
Figura 13. Elevación y Temperaturas	176
Figura 14. Temperaturas	177
Figura 15. Temperaturas	178
Figura 16. Precipitaciones	179
Figura 17. Precipitaciones	180
Figura 18. Folleto elaborado para Parques Nacionales y el Centro Regional Universitario Bariloche	181
Figura 19. Folleto informativo publicado el Área de Seguridad e Higiene del Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente [INIBIOMA (UNCO-CONICET)]	182
Figura 20. Disposición 00074 “Como desinfectar material de campo cuando se trabaja en humedales”	183

RESUMEN

La emergencia de enfermedades y la pérdida de la biodiversidad están entre los problemas ambientales más importantes que afrontan actualmente los científicos y las sociedades. Los anfibios no escapan a este reto y, de hecho, resultan un grupo de vertebrados particularmente vulnerable a estos desafíos. Aunque aún no existe un consenso general sobre las causas de su importante declinación como grupo, se sabe que los factores responsables podrían ser múltiples y que muchos de ellos muestran un efecto sinérgico negativo que agrava la situación.

La quitridiomycosis es una enfermedad emergente que en los últimos años ha sido vinculada a la muerte masiva de los anfibios. Esta enfermedad es causada por el hongo acuático zoospórico *Batrachochytrium dendrobatidis* -*Bd*- (Orden Rhyzophydiales). La infección de los anfibios comienza cuando las zoosporas móviles contactan un animal susceptible y penetran en su piel. Las alteraciones producidas por esta infección interfieren con varias funciones epiteliales de los anfibios como la circulación y mantenimiento del agua y sales, la respiración y el rol de este órgano como primer barrera contra muchas toxinas y agentes de infección.

Hasta hace poco los hongos Rhyzophydiales sólo se conocían como parásitos de plantas, algas, protistas e invertebrados. La especie que afecta a los anfibios es de reciente descripción siendo el primer caso en el que un hongo quitridio afecta a vertebrados. La quitridiomycosis ha sido calificada como la peor enfermedad infecciosa entre los vertebrados registrada hasta el momento en términos de número de especies impactadas y la posibilidad de llevarlas a la extinción o al menos de diezmar poblaciones enteras.

El registro más antiguo de *Bd* proviene de un ejemplar de *Xenopus fraseri* colectado en 1933 en África y se mantuvo como una enfermedad endémica de esas tierras durante más de dos décadas. Luego, la enfermedad se comenzó a registrar en diferentes regiones del planeta, con una velocidad de dispersión alarmante que continúa hasta la fecha. Algunos estudios sugieren que el hongo puede haber recorrido el mundo desde la década del '30 como parásito de la rana africana de uñas (*Xenopus laevis*) y de la rana toro norteamericana (*Lithobates catesbeianus*).

En Argentina, la evidencia más antigua del hongo en una especie nativa data del año 2002 en un ejemplar de *Leptodactylus latrans* de la Provincia de Buenos Aires. Aunque el registro más antiguo de la presencia de *Bd* corresponde a ejemplares de la especie exótica *L. catesbeianus*, sacrificados en el año 1993 en un criadero comercial en la Provincia de Santa Fe. Desde la publicación sobre quitridio en *L. latrans* hasta la actualidad, se han multiplicado los reportes de *Bd* a lo largo de diferentes regiones del país y en nuevas especies.

Conocer en detalle la distribución geográfica y requisitos ecológicos de las especies, tanto de los patógenos como de sus hospedadores, es fundamental para entender los determinantes ecológicos y evolutivos que intervienen en los patrones de dispersión y hábitat de las especies y planear estrategias de conservación. Mediante la utilización de Sistemas de

Información Geográfica se pueden predecir áreas ecológicamente adecuadas para el establecimiento de especies invasoras. Esta metodología construye modelos de nicho ecológico basados en valores de variables ambientales (dimensiones de nicho) en las localidades donde la especie blanco ha sido registrada. Luego, el modelo de nicho es proyectado en un espacio geográfico para identificar regiones donde la especie podría estar presente pero no ha sido registrada aún o donde podría establecerse después de una dispersión natural o mediada.

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, en este trabajo de tesis se plantearon los siguientes objetivos:

- Evaluar la presencia de *Bd* en especies de anuros nativas de Argentina y analizar el significado de la infección en las diversas especies y regiones.
- Discutir el papel de áreas protegidas en relación a la enfermedad.
- Determinar la presencia de *Bd* en poblaciones de rana toro asilvestradas y de criadero en Argentina y discutir su implicancia en la conservación de especies nativas.
- Elaborar mapas de predicción de nicho ecológico de *Bd* para Argentina.
- Determinar las variables ambientales que influyen en la distribución de *Bd* en Argentina con el fin de analizar los sitios donde el hongo quitridio podría prosperar en relación a las características ambientales de los mismos.
- Desarrollar y listar una serie de recomendaciones con el objetivo de minimizar la dispersión de *Bd* y mantener control sobre el transporte de especies.

Para cumplir con los objetivos propuestos, se llevaron a cabo las siguientes actividades: para analizar la presencia de *Bd* en anfibios nativos y en la rana exótica *L. catesbeianus* se realizaron observaciones en lupa a las estructuras bucales de las larvas; cortes histológicos y análisis moleculares a larvas, juveniles y adultos provenientes de museos, otras colecciones herpetológicas institucionales y privadas de Argentina y muestreos realizados entre los años 2007 y 2010. Para los análisis histológicos se cortó un parche de piel de las ancas y pelvis de los anfibios, se lo deshidrató y embebió en parafina. Se cortaron secciones de 5 μm y se tiñeron con Hematoxilina-Eosina. Para los análisis moleculares las muestras fueron enviadas al laboratorio del Dr. Michael G. Levy, a la Escuela Universitaria de Medicina Veterinaria de la Universidad Estatal de Carolina del Norte. En el laboratorio se procesaron mediante la técnica de PCR en tiempo real. Se utilizaron controles positivos y negativos de *Bd* que consistieron en hisopos inoculados con un número conocido de zoosporas y fueron corridos junto a las muestras de campo. El límite de detección fue de 0,5 genoma equivalente de *Bd*.

Para la elaboración de los mapas de predicción de nicho se utilizó el programa MaxEnt 3.3.3e (Maximum Entropy Modeling Program <http://www.cs.princeton.edu/~shapire/maxent>). El mismo utiliza datos de registro de la especie blanco (coordenadas) y los relaciona con variables ambientales y topográficas estimando las distribuciones más uniformes (entropía

máxima) a través del área de estudio. Como datos de la especie blanco se utilizaron registros de presencia del hongo quitridio infectando anfibios anuros. Los datos fueron obtenidos de muestreos propios y de registros publicados. Para modelar el nicho ecológico y generar los mapas de predicción se trabajó con 19 variables ambientales y una topográfica obtenidas de la base de datos de World Clim (<http://www.worldclim.org>).

Se analizaron un total de 871 ejemplares pertenecientes a 43 especies (también se distinguieron ejemplares de dos subespecies de *Rhinella spinulosa* y se analizaron ejemplares pertenecientes a géneros que no pudieron ser determinados a nivel específico). Las especies analizadas representan más de un cuarto de la diversidad de anfibios del país. Los ejemplares analizados provinieron de trece provincias de Argentina y de cuatro regiones geográficas: Litoral fluvial, Noroeste, Cuyo y Patagonia. Se registró la presencia de *Bd* en 57 individuos pertenecientes a 12 especies (y en las dos subespecies de *R. spinulosa*), distribuidos en nueve provincias y en las cuatro regiones estudiadas. Varios de los registros de *Bd* se realizaron en ejemplares provenientes de áreas naturales protegidas.

Cabe destacar que en la provincia de Neuquén, en el Parque Nacional Laguna Blanca, se encontraron ejemplares moribundos y muertos de *Atelognathus patagonicus* que mostraban signos etológicos de quitridiomycosis como aletargamiento, ausencia de brillo en la piel y delgadez extrema, y todos ellos resultaron positivos para *Bd*. Esta fue la única especie en la que se registraron ejemplares con síntomas evidentes de la enfermedad.

En cuanto al análisis de la especie exótica *L. catesbeianus*, se evaluaron un total de 88 individuos de cuatro provincias Argentinas. Resultaron positivos para *Bd* 17 ejemplares provenientes de dos provincias distanciadadas: San Juan (población asilvestrada) y Santa Fe (ejemplares de criadero). Ningún ejemplar evidenció sintomatología de quitridiomycosis.

Las áreas predichas por el modelo en las que las condiciones ambientales serían óptimas para el desarrollo del hongo quitridio se encuentran distribuidas en una extensa y diversa gama de ambientes en toda Argentina. En el oeste del país podemos destacar la región de precordillera y cordillera, desde Jujuy hasta el centro norte de Chubut. Hacia el centro del país el noroeste de Córdoba y noreste de San Luis, y hacia el este, una línea que sube por la costa del Río de La Plata, en Provincia de Buenos Aires, y continúa hacia el norte por el río Paraná, ocupando una amplia extensión del sur de la Provincia Entre Ríos y el centro-este de Santa Fe. Además, podemos destacar un alto índice de solapamiento de las condiciones ambientales locales con las que serían óptimas para el desarrollo del hongo quitridio en el suroeste de la Provincia de Corrientes y casi toda la Provincia de Misiones. En los mapas obtenidos para este trabajo se refleja una zona de alta probabilidad de *Bd* que coincide en su mayor parte con las regiones aledañas a las zonas de los reportes actuales.

Hasta ahora no se han registrado mortalidades en masa de anfibios en ningún punto del país. Sí se han reportado declinaciones de algunas poblaciones o especies como *Telmatobius*

spp. (en la zona de precordillera en el noroeste del país) y *Rhinella achalensis* en la Pampa de Achala, Provincia de Córdoba, con registro de *Bd* en los anuros. Pero no hay evidencia suficiente como para afirmar que esas declinaciones poblacionales fueron causadas por un brote de la enfermedad fúngica. Es de destacar que la presencia de *Bd* dentro de áreas naturales protegidas apoya la hipótesis de que las mismas no son, por si mismas, un medio adecuado en la protección de los anfibios contra este tipo de patógenos. Por otro lado, la confirmación de ejemplares de rana toro de criadero y especímenes de poblaciones asilvestradas infectados con *Bd*, sugiere que esta especie exótica invasora puede estar actuando como reservorio y dispersor del hongo quitridio a nuevas áreas y especies nativas de anfibios.

Hoy en día aún resta por relevar y muestrear un extensión considerable del extenso territorio nacional y alrededor de dos tercios de las especies nativas de Argentina. Incluso, existen varias provincias en las que hasta el momento no se ha realizado ninguna búsqueda del patógeno (*e.g.* Formosa, Chaco, Santiago del Estero, La Pampa). Sin embargo, los resultados del extenso muestreo realizado para este trabajo y de los análisis llevados a cabo con las técnicas de modelado de nicho permiten sugerir que el hongo *Bd* podría encontrarse infectando a un amplio porcentaje de las especies de anfibios de Argentina y prosperando en una muy amplia variedad de ambientes dentro de la diversidad territorial nacional. En este sentido, este trabajo sirve como punto de referencia importante, ya que brinda los resultados del primer muestreo sistemático y extenso, geográfica y biológicamente, con el objetivo de evaluar la presencia de *Bd* en el país. Además, se reseña y se organiza la información disponible sobre el tema, se evalúan los factores ambientales y biológicos que podrían estar vinculados a la emergencia de la enfermedad, las posibles fuentes de dispersión y las áreas potenciales de desarrollo del quitridio.

Es sabido que los anfibios están sufriendo declinaciones poblacionales y disminuciones en su distribución a nivel global sin ser Argentina una excepción. Sin embargo, muchas poblaciones de diversas regiones del planeta que otrora se vieron diezmadas por el hongo quitridio actualmente se están recuperando. Esto permite suponer que si cada uno de los agentes involucrados, desde sus posibilidades, colabora en evitar la dispersión y transmisión de esta enfermedad y mantener protocolos de seguridad tanto en el contacto con anfibios como con los cuerpos de agua donde ellos habitan y se continúa con los estudios para conocer cabalmente la ecología y epidemiología de este patógeno, se podría esperar la recuperación de algunas poblaciones afectadas, o al menos, se podrían delinear pautas y estrategias de manejo y conservación más efectivas. Esta tesis provee información fundamental y modelos que seguro resultarán útiles para alcanzar estas metas.

ABSTRACT

Loss of biodiversity and emerging infectious diseases are among the most important environmental problems for scientists and society altogether. Amphibians are as involved in this challenge as any other group, but they are particularly vulnerable among vertebrates. Despite lack of agreement about specific causes behind global amphibian declining, scientists argue that multiple factors are synergistically acting and negatively affecting amphibians.

The worst emerging infectious disease recognized as one of the primary causes of amphibian decline around the world is chytridiomycosis, caused by the aquatic zoosporic fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* -*Bd*- (Orden Rhizophydiales). The infection starts when the motile zoospores contact the epidermis of a susceptible animal. The illness affects epithelial functions such as respiration, circulation and retention of water, electrolytes and salts, as well as its role as barrier against toxins and infectious agents.

Until two decades ago, Rhizophydiales were known as parasites of plants, algae, protists and invertebrates. The species that affect amphibians was recently described and turned out to be the first chytrid fungus infecting vertebrates. Taking into consideration the number of impacted species and possibilities of bringing them to extinction, chytridiomycosis has been described as the worst infectious disease for vertebrates.

The oldest report of *Bd* infecting amphibians goes back to 1933 in a *Xenopus fraseri* specimen from Africa. The illness was restricted as an endemic infection of the African continent for more than two decades. Then, reports of chytridiomycosis began to appear in different regions of the world, exhibiting an alarming dispersion rate that continues to date. Some studies suggest that *Bd* could have been dispersed worldwide since 1930 as a parasite of the African clawed frog (*Xenopus laevis*) and the American bullfrog (*Lithobates catesbeianus*).

In Argentina, the first report of *Bd* in an endemic species was registered on 2002 in the ocellated frog (*Leptodactylus latrans*) from Province of Buenos Aires. Even though, the oldest record of the fungus corresponds to 1993, in specimens of the exotic bullfrogs from a farm in the Province of Santa Fe. Since the report in *L. latrans* up to this day, the presence of *Bd* has been reported through out different regions of the country and for several new species.

Knowledge on the geographic distribution and the ecologic requirements of the species (pathogens and hosts) is a fundamental key for understanding the ecological and evolutionary determinants of dispersion and habitat patrons of species and for formulating conservation strategies and plans. Geographic Information Systems provide useful tools for predicting available areas ecologically suitable for the establishment of invasive species. This methodology allow the development of models of ecological niche based on environmental variables and known localizations of the species. Then, the model is projected in a geographic

space in order to identify areas where the species could be present but haven't been reported yet, or where it could establish viable populations after natural or anthropogenic dispersion.

Based on the briefly exposed state of knowledge, this thesis goals were defined as:

- Evaluate the presence of *Bd* in native anuran species from Argentina and analyze the implications of the infection for different species and regions.
- Discuss the role of protected areas in relation to the disease future evolution.
- Determinate the presence of *Bd* in feral and farm populations of the American bullfrog in Argentina and its consequences for the conservation of native species.
- Elaborate niche prediction maps for *Bd* in Argentina.
- Determine the environmental variables that influence the distribution of *Bd* in Argentina in order to analyze the regions where *Bd* could develop due to environmental suitability.
- Develop and list fundamental recommendations aimed at minimizing *Bd* dispersion and controlling the transport of species.

In order to reach the proposed goals, the following methodology was adopted: to analyze the presence of *Bd* in native and exotic amphibians we observed the mouthpart of tadpoles and applied histological and molecular techniques. Subjects included tadpoles, juveniles and adults' specimens from museums, institutional and private collections and from own field samples. For histological examination we cut skin section of the ventral surface of the thighs and inguinal region. Tissues were routinely processed for histology, embedded in paraffin, sectioned at 5µm, and stained with Hematoxylin and Eosin. To collect DNA samples, all individuals were gently but firmly swabbed several times on the ventral surface, hind limbs and interdigital membrane. Each swab was placed in an individually numbered plastic cryogenic vial for storage. Samples were shipped to the Professor Michael G. Levy (PhD) laboratory at the North Carolina State University's School of Veterinary Medicine. Each swab was processed using *Bd* specific real-time polymerase chain reaction (qPCR). Appropriate negative and positive controls consisting of swabs inoculated with known numbers of zoospores were run concurrently with survey samples and the detection limit was less than/equal to 0.5 zoospore equivalents.

To identifying potential areas of distribution of *Bd* in Argentina we generated prediction maps using Maximum Entropy Modeling Program (MaxEnt 3.3.3e, <http://www.cs.princeton.edu/~shapire/maxent>). The program focuses on fitting a probability distribution for occurrence of the species in question to the set of pixels across the study region, based on the concept that the best explanation to unknown phenomena will maximize the entropy of the probability distribution, when subject to the appropriate constraints.

To run the model we used published data of localities with known presence of *Bd* in Argentina as well as results of our field sampling. The environmental variables envelope was

extracted from the WorldClim interpolated map database (<http://www.worldclim.org>) based on the 19 bioclimatic variables supplemented with information on one topographic feature.

A total of 871 specimens belonging to 43 species from 13 provinces and four geographic regions (Litoral fluvial, Noroeste, Cuyo y Patagonia) were analyzed, representing more than a quarter of the Argentinean' amphibian biodiversity. *Batrachochytrium dendrobatidis* was present in 57 individuals from 12 species of nine provinces and in the four regions under study. Some of the *Bd* registers came from natural protected areas.

It is important to remark that during the field work we found dying and dead individuals of *Atelognathus patagonicus* in endorheic lagoons of Laguna Blanca National Park (Province of Neuquén), some of them showing ethological signs of chytridiomycosis, such as lethargy, dull skin appearance and slimness. All the dead and dying individuals swabbed in this site were *Bd* positive. In fact, this was the only species where evident symptoms of illness were registered.

On the other hand, for the exotic American bullfrog (*L. catesbeianus*), histological and molecular examination revealed presence of *Bd* in seventeen specimens from two separate provinces: San Juan (feral population) and Santa Fe (farmed specimens) but no symptoms of chytridiomycosis were recognized.

Based on prediction models, the generated map shows that the majority of Argentinean regions are highly suitable for *Bd* occurrence. West highlands from Jujuy to Chubut provinces appear highly suitable for *Bd*. In the middle of the country, northwest of Córdoba and northeast of San Luis provinces also had a high index of suitability. To the east, highly suitable locations for *Bd* development extend through La Plata River floodplain and surrounding areas in Buenos Aires Province and continue north through Paraná River floodplain and surrounding areas, south of Entre Ríos and middle-east Santa Fe provinces. There is also a high probability of *Bd* development at southeast of Corrientes and Misiones provinces. All regions with elevated modelled indexes of suitability matched up with actual reports of *Bd* presence.

Until now, there are no reports of massive deaths of amphibians in Argentina, although there are registers reports of declining populations or species such as *Telmatobius spp.* (in northwest highlands) and *Rhinella achalensis* in Pampa de Achala (Province of Córdoba) with infection of *Bd*. Nevertheless there is not enough and consistent evidence to link the declines to the fungus infection. It must be pointed out that *Bd* presence in natural reserves support the hypothesis that solely protecting natural areas is not an effective kind of strategy to safeguard amphibian species from this kind of pathogens. Furthermore, the detection of *Bd* infecting farmed specimens and feral bullfrogs' populations suggests that this invasive exotic frog could be acting as a host and dispersing this pathogen into new areas and native anuran species.

Up to date, vast areas of Argentina remain unexplored for *Bd* infection in anurans and several provinces haven't been sampled for *Bd* at all (*e.g.* Formosa, Chaco, Santiago del Estero, La Pampa). Even though, the results of our extensive sampling and the niche modeling analysis

suggest that *Bd* could be infecting a high percentage of Argentinean amphibians' species, thriving in a wide variety of environments within the climatic diversity of Argentinean territory. In this sense, we consider this study to be a touchstone by presenting the first systematic results of a broad geographical and biological sampling aimed at evaluating *Bd* presence in the country. Also, the available information about the disease was organized and reported, the environmental and biological factors involved in *Bd* development and spread were analyzed, and the potential areas for development of the fungus were identified.

It is known that amphibians are globally declining and Argentinean species are not an exception. However, according to recent data, several populations from diverse regions of the world that have been declining due to chytrid fungus are now recovering. Thus, if every agent collaborates with their possibilities to avoid fungus dispersion by following safety protocols, and if pathogen ecological and epidemic studies continue and our knowledge of chytrid fungus deepen, there is certainly hope that some infected populations could recover. Such an objective requires that more effective management and conservation strategies are formulated, and this thesis provides fundamental data and models that may prove useful to accomplish this goals.

CAPITULO I

*“... Al igual que todos los jóvenes, me proponía ser un genio,
pero afortunadamente intervino la risa ...”
(Lawrence Durrell)*

INTRODUCCIÓN

Declinación global de anfibios

La emergencia de enfermedades, ya sea por microbios, parásitos etc., así como la pérdida de la biodiversidad por el impacto del hombre, están entre los problemas más importantes que afectan al ambiente y que actualmente confrontan la ciencia y las sociedades. Dentro de los problemas relacionados a la pérdida de biodiversidad, los anfibios constituyen un grupo que está severamente amenazado, debido principalmente a la destrucción y alteración de sus hábitats (Sala *et al.* 2000). Desde 1989, se han registrado amenazas en este grupo de vertebrados por factores desconocidos, incluso en áreas sin alteraciones evidentes (Blaustein y Wake 1995).

Éste fenómeno ha llevado a un encendido debate, en numerosas reuniones desarrolladas en diversas regiones del mundo, permitiendo que surgieran informes que instaron a determinar la situación global de este grupo de vertebrados. En el año 2004 se publicó un informe de suma importancia como punto inicial para una serie de estudios, la “Evaluación Global de Anfibios” (GAA -Global Amphibian Assessment- <www.globalamphibians.org>), para el cual participaron más de 500 científicos representando más de 60 naciones. El producto de esta evaluación a escala planetaria es el resultado de aproximadamente tres años de estudio del estado de distribución territorial y conservación de los anfibios. Esta convocatoria fue coordinada por la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) y organizaciones asociadas, y en ella se concluyó que de las más de 5.700 especies de anfibios que incluían ranas, sapos, salamandras y cecilias conocidas en el mundo hasta ese momento, la tercera parte se encontraba amenazada y 168 especies se habían extinguido, casi todas en los últimos 20 años. Más aún, se concluyó que faltaban datos suficientes para evaluar con precisión el estado de casi 1.300 especies, pero que los científicos, *a priori*, también creían amenazadas (Young *et al.* 2004).

Cabe destacar que del total de las especies de anfibios que habitan el planeta, un 43% están disminuyendo su área de distribución (y se supone que es producto de extinciones poblacionales), 27% se encuentran estables, solamente menos del 1% están incrementándose, y se desconoce la situación del resto de las especies. Por otro lado, según la Lista Roja UICN de

especies amenazadas, 668 especies son “Vulnerables”, 761 se encuentran “En Peligro” y 427 especies están consideradas “En Peligro Crítico”. Desde 1980, además, 435 especies se han movido a una categoría de riesgo más alto en esa lista, mientras que sólo cinco han mejorado su situación de riesgo (Young *et al.* 2004).

Algunos estudios muestran que, de todas las especies de anfibios conocidas en el mundo, un tercio posee algún grado de amenaza según los lineamientos de IUCN (2001) y del 25 % carecemos de información como para determinar su situación real. Se estima que cerca de 160 especies ya se han extinguido en la naturaleza; existe otro centenar, o más, que no se han registrado en años recientes y los estudios fenológicos disponibles señalan que la mitad de las poblaciones de anfibios en el mundo están declinando (Lavilla 2008).

Aún no existe un consenso general entre los estudiosos del tema sobre las causas de esta disminución, lo que se sabe con seguridad es que los factores responsables podrían ser múltiples y que muchos de ellos muestran un efecto sinérgico negativo que agrava la situación (Tabla 1).

Tabla 1. Factores causantes de la declinación de anfibios reconocidos a nivel mundial. Actualización de la información brindada por Young *et al.* (2001).

Factor	Procesos	Referencias
Cambio climático	Patrones de precipitaciones y temperaturas alterados que causan disrupciones en las condiciones macro o micro climáticas.	Heyer <i>et al.</i> 1988, Stewart 1995, Laurance <i>et al.</i> 1996, Pounds <i>et al.</i> 1999, Alexander y Eischeid 2001, Araújo <i>et al.</i> 2006, Ruthig 2009, Aragón <i>et al.</i> 2010, Blaunstein <i>et al.</i> 2010, Duarte <i>et al.</i> 2011, Todd <i>et al.</i> 2011.
Modificación del hábitat	Tala de bosques para ganadería y agricultura, drenado y relleno de humedales, explotación minera.	La Marca y Reinthaler 1991, Salas 1995, Fisher y Shaffer 1996, López 2009, Adler 2011, Brodeur <i>et al.</i> 2011.
Fragmentación de hábitat	Crecimiento urbano, rutas y caminos, terraplenes, etcétera.	Jennings y Hayes 1985, Bradford <i>et al.</i> 1993, Lehtinen <i>et al.</i> 1999, Semlitsch 2000, Ovaskainen y Hanski 2003, Gallant <i>et al.</i> 2007, López 2009.
Introducción de especies	Introducción de especies exóticas que depredan o compiten con las especies nativas.	Jennings y Hayes 1985, Bradford 1989, La Marca y Reinthaler 1991, Péfaur y Sierra 1999, Kats y Ferrer 2003, Sanabria <i>et al.</i> 2005, Cuello y Perotti 2006, Akmentis <i>et al.</i> 2009, Ghirardi <i>et al.</i> 2011, Lillo <i>et al.</i> 2011, Nori <i>et al.</i> 2011.
Radiación Ultravioleta (UV-B)	La radiación UV-B daña o mata las células produciendo mortalidad en los huevos, daños en la retina, y aumenta la susceptibilidad a las enfermedades y al bajo pH.	Blaustein <i>et al.</i> 1994, 1997, 2003, Anzalone <i>et al.</i> 1998, Lizana y Pedraza 1998, Croteau <i>et al.</i> 2008, Alton <i>et al.</i> 2011.

Factor	Procesos	Referencias
Contaminantes químicos	Pesticidas y desechos industriales. La toxicidad puede causar mortalidad directa de los huevos y adultos, alteración hormonal y reduce la cantidad de presas disponibles.	Harte y Hoffman 1989, Weygoldt 1989, Sparling 1995, Mazanti <i>et al.</i> 2003, de Wijer <i>et al.</i> 2003, Garcia Muñoz <i>et al.</i> 2011, Krishnamurthy y Smith 2011.
Lluvia ácida y acidificación del suelo	Las toxinas crean barreras para la dispersión y causan altas tasas de mortalidad de huevos y larvas.	Carric 1979, Whelpdale 1983, Berlekom 1985, Freda 1986, Harte y Hoffman 1989, Sparling 1995, Singh y Agrawal 2008.
Enfermedades (virus, bacterias, hongos, parásitos)	Generalmente causan la muerte de los anfibios.	Carey 1993, Kiesecker y Blaunstein 1995, Jancovich <i>et al.</i> 1997, Berger <i>et al.</i> 1998, Lips 1998, 1999, Carey <i>et al.</i> 1999, Daszak <i>et al.</i> 1999, Mao <i>et al.</i> 1999, Robinson <i>et al.</i> 2003, Fernandez-Beneitez <i>et al.</i> 2008, Schadich y Cole 2010, Tiberti 2011, Russel <i>et al.</i> 2011.
Comercio	Los anfibios son extraídos de la naturaleza y comercializados internacionalmente para consumo, mascotas, medicinas, entre otros.	Smith 1953, Gibbs <i>et al.</i> 1971, Jennings y Hayes 1985, Salas 1995, Gorzula 1996, Teixeira <i>et al.</i> 2001, Schlaepfer <i>et al.</i> 2005, Altherr <i>et al.</i> 2011.
Factores intrínsecos	Especies que habitan rangos altitudinales restringidos, estadio larvas prolongado y acuático y/o un grado relativamente alto de especialización trófica, ambiental, máximo tamaño corporal, o son endémicas o microendémicas.	Lips <i>et al.</i> 2003, Puschendorf 2003, Burrowes <i>et al.</i> 2004, López 2009.
Desastres naturales	Las inundaciones o sequías extremas, derrumbes e incendios.	Bradford <i>et al.</i> 2004, Maruf 2004, Venter <i>et al.</i> 2006.
Sinergismos	Múltiples factores pueden actuar de manera conjunta y causar mortalidad y efectos subletales en anfibios.	Blaunstein <i>et al.</i> 1994, Long <i>et al.</i> 1995, Carey <i>et al.</i> 1999, Mao <i>et al.</i> 1999, Pounds <i>et al.</i> 1999, Blaunstein y Kiesecker 2002, Boone <i>et al.</i> 2007, Romansic <i>et al.</i> 2011.

En América Latina, por lo menos 13 países han registrado declinaciones o extinciones de poblaciones de anfibios en los últimos 30 años (Young *et al.* 2001). Consecuentemente, se han realizado evaluaciones sobre el estado de las diversas especies de anfibios en esta región (Young *et al.* 2001, Stuart *et al.* 2004) en las que se resaltaron algunos elementos para la comprensión de los patrones ecológicos que muestran las poblaciones en declinación (Lips *et al.* 2003, Ranvestel *et al.* 2004, Lips y Donnelly 2005), y se brindó evidencia sobre las causas potenciales de su declinación (Merino-Vitteri 2001, Puschendorf 2003, Burrowes *et al.* 2004, Lips *et al.* 2004).

En base a estas contribuciones, actualmente se pueden analizar algunos de los factores que intervendrían en las declinaciones de anfibios en América Latina como así también alrededor del mundo (Lips *et al.* 2005). Por ejemplo, se postuló que las especies que habitan tierras altas, tienen larvas acuáticas y un grado relativamente alto de especialización para algún

tipo de ambiente en particular, serían las que se encuentran en mayor riesgo de sufrir impactos negativos a causa de los factores mencionados en la Tabla 1 (Puschendorf 2003, Burrowes *et al.* 2004). Sin embargo, se pueden presentar interacciones complejas entre numerosos factores que podrían desencadenar estas declinaciones a nivel global (Lips *et al.* 2005).

En Argentina este fenómeno no es una excepción, y se han reconocido numerosas causas dentro de la problemática de la biodiversidad en general y de la declinación de anfibios en particular (*e.g.* Peltzer *et al.* 2003). Según Lavilla (2003), la información con que se cuenta hasta el momento indica que varias especies de anfibios se encuentran en situación delicada en cuanto a su estatus de conservación, resultando los factores más relacionados a dicha problemática la alteración de los ambientes boscosos, la reconversión de los espacios naturales en áreas agrícola-ganaderas, las alteraciones de humedales y otros cuerpos de agua, el crecimiento urbano, la contaminación por metales pesados, agroquímicos y desechos orgánicos y la introducción y traslocación de especies. En un trabajo más reciente, Lavilla (2009) enumera las siguientes causas reconocidas como más importantes en relación a la declinación global de anfibios:

- a- la expansión de la frontera agropecuaria,
- b- la aparición de enfermedades emergentes,
- c- el auge de los desarrollos mineros,
- d- las actividades petroleras,
- e- diversos factores relacionados con el contexto social,
- f- factores relacionados con el cambio climático global.

Causas de declinación: la aparición de enfermedades emergentes

Como destacan numerosos autores (*e.g.* Bosch 2003, Lips *et al.* 2008, Pedersen *et al.* 2008, Beldomenico y Begon 2009, Lavilla 2009, Smith *et al.* 2009), las enfermedades han sido reconocidas como uno de los factores que más han contribuido a la declinación global de anfibios alrededor del mundo. Los agentes etiológicos que las causan son diversos: virus, bacterias, protistas, gusanos planos y redondos, mohos y hongos.

Virus: los virus que afectan a los anfibios comenzaron a ser estudiados en profundidad desde hace unos veinte años (Speare y Smith 1992) y aunque no se ha podido demostrar estrictamente su relación con el declive generalizado, sí está demostrado que pueden producir mortalidades en masa muy importantes (Bosch 2003). Los “iridovirus”, constituyen un grupo en el que sólo dos géneros afectan a vertebrados: *Lymphocystivirus* y *Ranavirus*. El primero está restringido a peces de agua dulce y salada, mientras que el segundo además de infectar anfibios puede afectar a peces y reptiles (Goorha 1995). Esta baja especificidad hace que los “ranavirus”

sean muy difíciles de controlar, por lo que muchas especies (principalmente de peces) se convierten en reservorios de la enfermedad o en hospedadores, permitiendo a los virus amplificarse con facilidad (Moody y Owens 1994, Mao *et al.* 1999).

Los casos de mortalidades en masa de anfibios atribuidos a estos virus se conocen desde 1965 en Estados Unidos, y la lista de países afectados crece constantemente: Croacia, Reino Unido, Canadá, Venezuela, China, Portugal, etc. (*e.g.* Clark *et al.* 1968, Wolf *et al.* 1968, Drury *et al.* 1995, Jancovich *et al.* 1997, Zhang *et al.* 1999, Soares *et al.* 2003).

Todavía no se conocen los factores ambientales que motivan el desarrollo de los iridovirus, pero sí se sabe que son extraordinariamente resistentes, sobreviviendo en la zona afectada incluso sin la presencia del hospedador (aunque sin multiplicarse) y en condiciones adversas (Langdon 1989). Además, son altamente infecciosos y afectan a larvas, metamórficos y adultos de anuros (Clark *et al.* 1968, Wolf *et al.* 1968, Hyatt *et al.* 1998). La sintomatología de las enfermedades de los anfibios provocadas por iridovirus es compleja. Muchas veces los individuos infectados mueren sin síntomas externos evidentes que indiquen la naturaleza del problema, aunque a veces se presentan hemorragias locales y úlceras en la piel. Sin embargo, los individuos afectados presentan en general agudas necrosis en órganos internos (Hyatt *et al.* 1998).

Los métodos de dispersión de los iridovirus son diversos. Los propios individuos afectados llevan la enfermedad a zonas próximas con sus desplazamientos. Además, especies como *Rhinella marinus*, que han sido introducidas en muchas partes del mundo (Solís *et al.* 2008), se muestran poco vulnerables a la acción de estos virus y resultan ser habituales vectores de transmisión que extienden la enfermedad. Las epidemias de iridovirus se han producido frecuentemente en áreas degradadas, como por ejemplo charcas artificiales para el ganado, resultando un medio muy alterado y con poca cobertura vegetal donde se concentran grandes poblaciones de anfibios (Cunningham *et al.* 1995, Whittington y Hyatt 1997). Esto indica que, probablemente, los iridovirus están afectando a poblaciones de anfibios ya inmunodeprimidas por algún tipo de estrés ambiental.

Bacterias: desde los años 40 hubo constancia de episodios de mortalidad de anfibios relacionados con bacterias (*e.g.* Dusi 1949). La bacteria *Aeromonas hydrophila*, que se encuentra frecuentemente en el suelo y en el agua es considerada parte de la flora natural de los anfibios, pero si se encuentra en abundancia excesiva, influye de manera negativa en estos vertebrados. La enfermedad que genera es conocida como “pata roja” o “dermatoseptisemia bacterial”. Los individuos afectados, larvas y adultos, presentan graves hemorragias internas fundamentalmente en los miembros, acompañadas frecuentemente de llamativas inflamaciones (Bosch 2003). La causa última de muchos episodios de pata roja permanecen sin explicar; sin embargo, actualmente algunos patólogos creen que la bacteria *A. hydrophila* se comporta en

realidad como un patógeno oportunista que se instala en individuos ya debilitados por otros agentes bióticos mucho más problemáticos para los anfibios como son, por ejemplo, los virus (e.g. Cunningham *et al.* 1996).

Por otro lado, se mencionan infecciones por otras bacterias como *Flavobacterium oderans*, *F. indologenes*, y *F. meningosepticum* (Olson *et al.* 1992, Green *et al.* 1999) que generan la enfermedad denominada “flavobacteriosis”. Los signos clínicos de esta enfermedad son no específicos pero pueden incluir derrames en los sacos linfáticos, edema corneal o lingual y congestión visceral (Olson *et al.* 1992, Taylor *et al.* 2001, Keller y Shilton 2002). La presentación clínica de la flavobacteriosis en general se asemeja a la enfermedad causada por la *Aeromonas sp.* (Densmore y Green 2007).

Otro tipo de bacterias que generan efectos negativos en los anfibios son las del género *Mycobacterium*. Las especies más comunes aisladas en anfibios son *Mycobacterium marinum*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. xenopi*, *M. abscessus*, *M. avium*, y *M. szulgai* (Chai *et al.* 2006). La enfermedad causada por este género de bacterias es habitualmente crónica y lenta, y puede presentar un amplio rango de síntomas como inflamación granulomatosa en dedos y boca. En los órganos internos afecta el hígado, bazo, intestinos y riñón. Otros síntomas incluyen descarga mucosa excesiva por vía oral y nasal, aletargamiento y disminución en la condición corporal (Densmore y Green 2007).

Por último, podemos destacar otro grupo de bacterias que afecta a los anfibios, perteneciente al género *Chlamydophila*. Las especies más comunes reportadas son *C. psittaci* y *C. pneumoniae* (Bodetti *et al.* 2002, Jacobson *et al.* 2002) y *C. abortus* (Blumer *et al.* 2007). Los signos clínicos de esta enfermedad incluyen muda excesiva, hinchazón de la parte abdominal del cuerpo, acumulación de fluido en los sacos linfáticos, aletargamiento y despigmentación cutánea (Densmore y Green 2007).

Protistas: la “amoebiasis”, un tipo de gastroenteritis asociada principalmente con la especie de ameba *Entamoeba histolytica* (Wright 2006) es conocida por ocasionar sintomatología observable en órganos internos de los anfibios, principalmente en el tracto gastrointestinal, riñón o hígado y aparece en general en ejemplares estresados. Sus síntomas incluyen anorexia, diarrea, sangrado en las heces y deshidratación (Poynton y Whitaker 2001).

Gusanos: entre los gusanos planos, se ha podido comprobar que diversos trematodos (más de 40 especies de más de 30 géneros y 2 familias) parasitan a los anfibios y utilizan sus larvas como hospedadores intermediarios. De todos ellos, *Ribeiroia ondatrae* ha sido claramente asociado con la aparición de malformaciones en anfibios (Johnson *et al.* 2002) que incluyen normalmente polidactilia y otras deformaciones en las extremidades (Johnson *et al.* 1999). Parece ser que los quistes internos que provocan los parásitos alteran la posición de

grupos de células responsables del crecimiento y liberan además sustancias químicas que provocan un crecimiento anormal (Bosch 2003). Además, algunos géneros de gusanos redondos (nemátodos) como *Rhabdias* y *Myxozoon*, que se encuentran de forma inocua en los pulmones de muchos anfibios, en grandes cantidades resultan letales (Williams 1960) causando daños pulmonares, neumonía (Densmore y Green 2007) e invadiendo la piel, ojos y cavidades del cuerpo (Bosch 2003).

Mohos: entre los mohos, un patógeno de peces distribuido globalmente es *Saprolegnia ferax*, conocido desde hace tiempo por provocar también mortalidades masivas de huevos de anfibios. Muchas especies de peces que se encuentran introducidos en diversos lugares de todo el mundo son portadores habituales de este organismo zoospórico, y su papel en la transmisión de este patógeno a los anfibios ha sido demostrado (Kiesecker *et al.* 2001). Sin embargo, este moho acuático ha sido vinculado sólo de forma puntual en el declive de algunas poblaciones de anfibios (Kiesecker y Blaustein 1997). La respuesta inflamatoria es generalmente mínima, pero las lesiones muestran evidencias de ulceración, necrosis y edemas, dependiendo de la severidad de la infección (Densmore y Green 2007). Como con otras enfermedades en las que la tasa de transmisión depende del contacto entre individuos susceptibles (Beldomenico y Begon 2009), las especies de anfibios que presentan puestas comunales serían más susceptibles de sufrir mortalidad por *S. ferax* que las especies que depositan sus puestas de forma aislada (Kiesecker y Blaustein 1997). Además, se ha demostrado que *S. ferax* puede actuar de forma sinérgica con variables ambientales (Kiesecker *et al.* 2001): el aumento de los períodos secos provoca la disminución del nivel del agua de las charcas, haciendo que las puestas sufran altas exposiciones a la radiación ultravioleta que favorecen las infecciones con *Saprolegnia*.

Hongos: la enfermedad causada por un hongo y que en los últimos años se ha postulado como la más vinculada a la muerte masiva de los anfibios es la “quitridiomycosis”. Esta enfermedad es causada por el hongo acuático zoospórico *Batrachochytrium dendrobatidis* -*Bd*- (Reino Fungi, Clase Chytridiomycetes, Orden Rhyzophydiales) (Longcore *et al.* 1999, Letcher *et al.* 2006). Este hongo se caracteriza por afectar el estrato superficial de la piel de los anfibios (estrato córneo y granuloso) (Berger *et al.* 1998, Pessier *et al.* 1999). Las lesiones en la piel generalmente son leves, y se presentan signos de hiperqueratosis como el cambio más evidente. Algunos ejemplares pueden desarrollar hiperplasia irregular, desorden en las células de la epidermis, espongirosis, erosiones y ulceraciones ocasionales (Berger *et al.* 1998, Pessier *et al.* 1999). Algunos síntomas a nivel comportamental incluyen aletargamiento, adelgazamiento por falta de alimentación y disminución en el brillo de la piel.

La infección comienza cuando las zoosporas móviles contactan un animal susceptible y penetran en su piel. Las alteraciones producidas por esta infección interfieren con varias

funciones epiteliales de los anfibios, incluyendo la circulación y mantenimiento del agua y sales, la respiración y su rol como barrera contra las toxinas y agentes de infección. Hasta hace poco, estos hongos quitridiales sólo se conocían como parásitos de plantas, algas, protistas e invertebrados. La especie que afecta a los anfibios es de reciente descripción, siendo el primer caso en el que un quitridio afecta a un vertebrado (Longcore *et al.* 1999).

La declinación de anfibios comenzó a preocupar a los científicos, principalmente cuando comenzaron a observar que algunas especies cuyas poblaciones se encontraban en áreas aparentemente aisladas del impacto antrópico mostraban disminuciones importantes e incluso su completa desaparición, por lo que la posible conexión entre la presencia del quitridio en estas poblaciones en declinación comenzaba a tener sustento (Crump *et al.* 1992).

La quitridiomycosis ha sido descrita como la peor enfermedad infecciosa registrada hasta ahora entre los vertebrados en términos del número de especies afectadas y además por su potencial como posible agente de extinción de estos organismos. Por esta razón, ha sido reconocida como una de las causas principales de la declinación global de anfibios y extinción de especies a nivel global (Berger *et al.* 1998, Longcore *et al.* 1999, Daszak *et al.* 2004, Garner *et al.* 2006).

Por otro lado, Lips *et al.* (2006) apoyan la hipótesis de que *Bd* es el responsable de las declinaciones de anfibios que habitan el Neotrópico (América del Sur, Centroamérica, una parte de México, y el Caribe) en base a tres importantes niveles de análisis: 1) los datos demuestran que *Bd* estaba ausente o en una muy baja prevalencia previo a las importantes declinaciones del año 2004 (lo que sugiere que el patógeno arribó hace poco al área), 2) los niveles de infección entre los anfibios poco saludables y/o moribundos o muertos son mucho mayores que en los animales saludables (sugiriendo que la presencia de la infección y las muertes no son coincidencia), 3) existe una amplia variabilidad en la susceptibilidad de las especies y 4) el estudio demuestra la rapidez con la cual puede ocurrir la invasión del patógeno y la subsecuente declinación del hospedador. En solo unos meses, la riqueza de especies y la densidad de anfibios declinaron más del 60% y el 90% respectivamente. En este sentido, ningún otro patógeno, anomalía climática, predadores exóticos o cambios en los hábitats, han sido relacionados tan directamente con las declinaciones de los anfibios (Johnson 2006).

Origen de *Batrachochytrium dendrobatidis* en el mundo

En general, para cualquier tipo de enfermedad emergente hay dos hipótesis en relación con su origen:

- *la hipótesis del patógeno incipiente* establece que: el patógeno (o una cepa más virulenta del mismo) ha sido recientemente extendida hacia áreas geográficas nuevas,

encontrando nuevos hospedadores -nativos de la región- que son altamente susceptibles a la infección;

- *la hipótesis del patógeno endémico* sugiere que: el patógeno ha estado siempre en el ambiente pero que ha incrementado el rango de huéspedes o su poder patógeno por cambios en las condiciones ambientales o, simplemente, no fue percibido previamente por el hombre.

La evidencia actual sugiere que la quitridiomycosis puede ser un patógeno incipiente que está siendo dispersado mundialmente a través de distintos vectores (Kilpatrick *et al.* 2010) y algunas situaciones en diversas partes del mundo apoyan esta hipótesis. Laurance *et al.* (1996) han registrado y caracterizado la expansión del patógeno a manera de una ‘ola’ (“wave”) que avanza de sur a norte en Australia causando mortalidad en anfibios postmetamórficos; y consideran que el patógeno fue ingresado a través de la liberación de peces de acuario en ambientes naturales facilitando de esta manera la dispersión de esporas en el agua, capaces de parasitar a los anfibios (Rachowicz *et al.* 2005). De esta manera, explican la declinación o desaparición de 14 especies de anuros en el este de Australia (una región con importantes áreas protegidas) sobre la hipótesis de que *Bd* es un patógeno incipiente.

Por otro lado, también Lips (1999) y Lips *et al.* (2004) hipotetizan que el patógeno virulento y contagioso se movió desde América del Norte a través de América Central (entre las décadas de 1970 y 1990) causando declinaciones en numerosas familias y especies de anuros. Lips (1999) sugiere que tanto los peces exóticos, los humanos y otros animales podrían haber introducido este patógeno.

Otros autores (Weldon 2002, Weldon *et al.* 2004) proponen que el hongo quitridial puede haber recorrido el mundo desde 1930 como parásito de la rana africana de uñas (*Xenopus laevis*), exportada para pruebas de embarazo entre 1940 y 1950 y posteriormente como modelo de estudio en investigaciones científicas (Kilpatrick *et al.* 2010). Sin embargo, en Australia, donde se han producido la mayor cantidad de declinaciones (Berger *et al.* 1998), esta especie está restringida a los laboratorios, y aún no se han reportado poblaciones asilvestradas (Rachowicz *et al.* 2005).

Otro vector potencial incluye diversas especies de peces de acuario y comerciales (*e.g.* especies de las familias Salmonidae, Cyprinidae, Cichlidae) que son transportados por todo el mundo (Gillespie y Hero 1999). Lo mismo sucede con la rana toro norteamericana (*Lithobates catesbeianus*), originaria de Estados Unidos y comercializada en todo el mundo para criaderos comerciales y restaurantes (Picco y Collins 2008).

Se han llevado a cabo estudios genéticos para determinar el posible origen de esta enfermedad emergente, teniendo en cuenta que para apoyar la hipótesis del patógeno incipiente, los genotipos de las cepas virulentas de *Bd* de las regiones en donde se lo considera exótico, deberían mostrar reducida variabilidad en sus alelos y una relación importante cuando se compara con el genotipo del hongo en la población originaria (Rachowicz *et al.* 2005). La

escasa variabilidad genética del hongo en poblaciones alrededor del mundo apoyarían esta hipótesis (Morehouse *et al.* 2003, Morgan *et al.* 2007). Sin embargo, los estudios aún no son concluyentes debido al reducido número de trabajos que caracterizan el genotipo del quitridio que se encuentra parasitando a las especies de anfibios que resultan hospedador originario (por ejemplo, poblaciones nativas de *Xenopus laevis* en África).

Weldon *et al.* (2004) proponen que al considerar la hipótesis del patógeno incipiente se deberían seguir los siguientes criterios: 1) los hospedadores que funcionan como vectores deberían mostrar escasos o nulos efectos clínicos, 2) el sitio que se supone como origen donde se registró *Bd* debería ser el registro más antiguo conocido a nivel global, 3) el dato de la ocurrencia de *Bd* debería preceder a cualquier declinación de anfibios en regiones prístinas (*e.g.* fines de la década del '70), 4) la prevalencia en el hospedador debería ser estable a lo largo del tiempo, 5) no se deberían observar patrones de dispersión a lo largo del tiempo en la región, 6) se debería identificar una diseminación global de *Bd* a partir de una región de origen y 7) *Bd* podría mostrar una amplia variación genética en la región del hospedador, superior a la de aquellas regiones recientemente invadidas. Además, los autores avalan el origen africano de *Bd* con cierta evidencia epidemiológica y demuestran la veracidad de los criterios mencionados anteriormente mediante diversas justificaciones: 1) sostienen que el huésped vector (*X. laevis*) muestra efectos clínicos mínimos o no aparentes de quitridiomycosis, 2) el sitio propuesto como origen es el de reporte más temprana de *Bd* hasta ahora (1938)¹, 3) el dato precede declinaciones de anfibios en áreas prístinas, 4) la prevalencia de *Bd* en el huésped vector (*X. laevis*) ha sido estable a lo largo del tiempo, 5) no se ha observado un patrón geográfico de dispersión a lo largo del tiempo en la región de origen (desde el primer registro hasta 1973, *Bd* fue detectado desde los 24° y 34° de latitud hasta los 18° y 32° longitud, implicando positivos para toda la región de Sudáfrica), y 6) se puede identificar una diseminación global de *Bd* a través del comercio internacional de *X. laevis* mediante la captura de ejemplares silvestres, que comenzó en 1935 y continúa hasta la fecha. No hay evidencia suficiente aún para demostrar el criterio 7 (Weldon *et al.* 2004).

Después del primer registro de quitridiomycosis en anfibios de África en 1933 en *X. fraseri*, la enfermedad se mantuvo como endémica de esas tierras durante más de dos décadas, antes de que algún ejemplar positivo fuera encontrado en las afueras del territorio de ese continente. Luego, la enfermedad se comenzó a registrar en diferentes regiones del planeta, con una velocidad de dispersión alarmante y que continúa hasta la fecha (Tabla 2). El siguiente caso positivo de *Bd* fue un registro en *Rana clamitans* en Québec (Canadá) en 1961, y desde entonces se fueron sucediendo nuevos registros en diferentes regiones del mundo (Weldon *et al.*

¹ Posteriormente al trabajo de Weldon *et al.* (2004), se reportó la presencia de *Bd* en ejemplares de *Xenopus fraseri* colectados en el año 1933 (Soto-Azat *et al.* 2009), pero también en África, manteniendo el registro en ese continente como el más antiguo del mundo hasta la fecha.

2004). Cabe destacar que el primer registro de *Bd* en anfibios de Asia fue en el año 2006, muy alejado en el tiempo de los registros en otros continentes (Yumi *et al.* 2008).

Tabla 2. Año del registro más antiguo de *Batrachochytrium dendrobatidis* en las diferentes regiones del mundo.

Año	Región	Especie afectada	Fuente
1933	África	<i>Xenopus fraseri</i>	Soto-Azat <i>et al.</i> 2009
1961	América del Norte	<i>Rana clamitans</i>	Ouellet <i>et al.</i> 2003
1978	Oceanía	<i>Litoria gracilentata</i>	Berger <i>et al.</i> 1999, Waldman <i>et al.</i> 2001
1983	América Central	<i>Rana tarahumarae</i>	Rollins-Smith <i>et al.</i> 2002
1986	América del Sur	<i>Atelopus cruciger</i>	Bonaccorso <i>et al.</i> 2003
1997	Europa	<i>Alytes obstetricans</i>	Bosch <i>et al.</i> 2000
2006	Asia	<i>Lepidobatrachus laevis</i> , <i>Ceratophrys corneta</i> , <i>C. cranwelli</i> , <i>C. ornata</i> , <i>C. calcarata</i> , <i>Chacophrys pierotti</i> , <i>Occidozyga lima</i> , <i>Leptodactylus pentadactylus</i> y <i>Plethodontohyla tuberata</i> (exóticas)	Yumi <i>et al.</i> 2008
2009		<i>Bufo gargarizans</i> , <i>Hyla japonica</i> (nativas)	Yang <i>et al.</i> 2009

Actualmente, *Bd* infecta ampliamente (en cuanto a número de especies y rango de dispersión) a especies de anfibios en África, América, Europa y Oceanía (Berger *et al.*, 1998; Lips, 1999; Bosch *et al.*, 2001; Garner *et al.*, 2006) y recientemente en Asia (Yang *et al.* 2009).

El primer registro de *Bd* en África coincide con el primer registro a nivel mundial, y fue detectado en un ejemplar de *Xenopus laevis* de Sudáfrica en el año 1938. Sin embargo, un nuevo estudio detectó signos de *Bd* en ejemplares de *Xenopus fraseri* colectados en Camerún en el año 1933 (Soto-Azat 2009), retrasando el primer registro para el continente y a nivel mundial 5 años atrás. A partir de allí se ampliaron los estudios y se detectaron nuevos casos en este continente. En la mayoría de ellos el hongo quitridial ha sido vinculado con mortalidades de anfibios en diversas regiones del este y sur de África (*e.g.* Hopkins y Channing 2003, Channing *et al.* 2006, Smith *et al.* 2007) y recientemente se detectó la presencia de *Bd* en áreas protegidas de la región central del continente, en la República Democrática de El Congo en el año 2007 (Greenbaum *et al.* 2008)

El continente Americano cuenta con el registro de *Bd* más antiguo fuera de África (Ouellet *et al.* 2003) y este hongo quitridial ya ha sido reportado a lo largo de todo el continente, pudiéndose mencionar a modo de ejemplo (de norte a sur) registros en anfibios de: Canadá (Ouellet *et al.* 2003), Estados Unidos (Steiner y Lehtinen 2008, Zellmer *et al.* 2008), México (Rollins-Smith *et al.* 2002, Lips *et al.* 2004), Puerto Rico (Burrowes *et al.* 2004), Costa Rica (Lips *et al.* 2003, Puschendorf 2003), Panamá (Lips 1999), Venezuela (Bonaccorso *et al.* 2003),

Ecuador (Ron y Merino-Viteri 2000), Perú (Seimon *et al.* 2005), Bolivia (Barrionuevo *et al.* 2008), Brasil (Toledo *et al.* 2006), Uruguay (Borteiro *et al.* 2009, Bardier *et al.* 2011) y Argentina (para detalles ver Tabla 1 en Capítulo II).

En Europa, a partir del año 2000 se comenzaron a publicar registros de *Bd* en diversos países. En España por ejemplo, se reportaron declinaciones de *Alytes obstetricans* y de *Salamandra salamandra*, ambas debidas a eventos de quitridiomycosis, documentadas desde 1997 (Bosch *et al.* 2001) y 1999 (Bosch y Martínez-Solano 2005) respectivamente. A partir del año 2000 aparecieron nuevos registros en España, Portugal, Italia, Suiza, Gran Bretaña y Alemania y en el año 2005 comenzaron estudios más exhaustivos y sistemáticos en busca del quitridio. Las evaluaciones antes mencionadas demuestran que *Bd* está amplia e irregularmente distribuido en Europa e infecta a un amplio rango de especies de anfibios (Garner *et al.* 2005).

Por otra parte, existe abundante bibliografía que trata sobre la declinación de anfibios en Oceanía desde el año 1980 (*e.g.* McDonald 1990, Tyler 1991, Ingram y McDonald 1993, Richards *et al.* 1993, Dennis y Mahony 1994, McNellie y Hero 1994, Laurance 1996, Laurance *et al.* 1996, Mahony 1996, Alford y Richards 1997, Berger *et al.* 1998). También se han realizado numerosos encuentros y reuniones para determinar las causas de estas declinaciones y una de las principales sugiere a *Bd* como la razón de estas disminuciones poblacionales (Dennis y Mahony 1994, Laurance *et al.* 1996, Berger *et al.* 1998). Berger *et al.* (1999) sostienen la hipótesis de que *Bd* fue introducido en Australia en la década de 1970, en los alrededores de Brisbane (sitio en el que ocurrió la primera declinación repentina).

En Asia los reportes de presencia de *Bd* son pocos y los publicados incluyen muestreos de anfibios en cautiverio involucrados en el comercio para mascotas en Japón (Yumi *et al.* 2008); un estudio que muestra una prevalencia extremadamente baja de *Bd* en poblaciones silvestres de cuatro especies nativas de Indonesia (Kusrini *et al.* 2008) y una investigación que muestra infección por *Bd* en tres de siete especies nativas de Corea del Sur estudiadas (Yang *et al.* 2009). Asimismo solo dos estudios han descripto intentos de búsqueda de *Bd* en anfibios de China. El primero incluye muestreos en anfibios de colecciones de museos de China continental como parte de un estudio para analizar la distribución histórica del hongo en América del Norte (Ouellet *et al.* 2005). El segundo estudio envuelve un muestreo de anfibios silvestres e introducidos en Hong Kong (Rowley *et al.* 2007). Ninguno de ellos detectó *Bd* en anfibios de este país (Bai *et al.* 2010).

BIBLIOGRAFIA CITADA

- Adler K. 2011. Amphibian extinction crisis: the key threat of habitat loss and a potential major role for amateurs. *Herpetological Review*. 42: 139-142.
- Akmentins MS, Pereyra LC, Lescano JN. 2009. Primer registro de una población asilvestrada de rana toro (*Lithobates catesbeianus*) en la provincia de Córdoba, Argentina. *Notas sobre la biología de la especie*. Cuadernos de Herpetología. 23: 25-32.
- Alexander MA, Eischeid JK. 2001. Climate Variability in Regions of Amphibian Declines. *Conservation Biology*. 15(4): 930-942.
- Alford RA, Richards SJ. 1997. Lack of evidence for epidemic disease as an agent in the catastrophic decline of Australian rainforest frogs. *Conservation Biology*. 11: 1026-1029.
- Altherr S, Goyenechea A, Schubert D. 2011. Canapés to extinction: the international trade in frogs' legs and its ecological impact. A report by Pro Wildlife, Defenders of Wildlife and Animal Welfare Institute (eds.), Munich (Germany), Washington, D.C. (USA).
- Alton LA, Wilson RS, Franklin CE. 2011. A small increase in UV-B increases the susceptibility of tadpoles to predation. *Proc. R. Soc. B*: 278: 2575-2583.
- Anzalone CR, Kats LB, Gordon MS. 1998. Effects of solar UV-B radiation on embryonic development in *Hyla cadaverina*, *Hyla regilla*, and *Taricha torosa*. *Conservation Biology*. 12: 646-653.
- Aragón P, Rodríguez MA, Olalla-Tárraga MA, Lobo JM. 2010. Predicted impact of climate change on threatened terrestrial vertebrates in central Spain highlights differences between endotherms and ectotherms. *Animal Conservation*. 13: 363-373.
- Araújo MB, Thuiller W, Pearson RG. 2006. Climate warming and the decline of amphibians and reptiles in Europe. *Journal of Biogeography*: 33: 1712-1728.
- Bai C, Garner TWJ, Li Y. 2010. First evidence on *Batrachochytrium dendrobatidis* in China: discovery of chytridiomycosis in introduced American bullfrogs and native amphibians in the Yunnan Province, China. *EcoHealth*. 7: 127-134.
- Barbier C, Ghirardi R, Levy MG, Maneyro R. 2011. First Case of chytridiomycosis in an adult specimen of a native anuran from Uruguay. *Herpetological Review*. 42(1): 65-66.
- Barrionuevo JS, Aguayo R, Lavilla EO. 2008. First record of chytridiomycosis in Bolivia (*Rhinella quechua*: Anura: Bufonidae). *Diseases of Aquatic Organisms*. 82: 161-163.
- Beldomenico PM, Begon M. 2009. Disease spread, susceptibility and infection intensity: vicious circles?. *Trends in Ecology and Evolution*. 25(1): 21-27.
- Berger L, Speare R, Hyatt A. 1999. Chytrid fungi and amphibian declines: Overview, implications and future directions. En: Campbell A (ed). *Declines and disappearances of Australian frogs*. Canberra, Australia: Biodiversity Group Environment Australia.
- Berger L, Speare R, Daszak P, Green D E, Cunningham AA, Goggin CL, Slocombe R, Ragan MA, Hyatt AD, McDonald KR, Hines HB, Lips KR, Marantelli G, Parkes H. 1998. Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rainforests of Australia and Central America. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 95: 9031-9036.
- Berlekom M. 1985. Frogs. *Acid Magazine*. 3: 11-12.
- Blaustein AR, Wake DB. 1995. The puzzle of declining amphibians populations. *Scientific American*. 272: 52-57.
- Blaustein AR, Kiesecker JM. 2002. Complexity in conservation. Lessons from the global decline of amphibian populations. *Ecological Letters*. 5: 597-608.
- Blaustein AR, Kiesecker JM, Chivers DP, Anthony RG. 1997. Ambient UV-B radiation causes deformities in amphibian embryos. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 94: 13735-13737.
- Blaustein AR, Romansic JM, Kiesecker JM, Hatch AC. 2003. Ultraviolet radiation, toxic chemicals and amphibian population declines. *Diversity and Distributions*. 9: 123-140.
- Blaustein AR, Hoffman PD, Hokit DG, Kiesecker JM, Walls SC, Hays JB. 1994. UV repair and resistance to solar UV-B in amphibian eggs: A link to population declines? *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 91: 1791-1795.
- Blaustein AR, Walls SC, Bancroft BA, Lawler JJ, Searle CL, Gervasi SS. 2010. Direct and indirect effects of climate change on amphibian populations. *Diversity*. 2: 281-313.
- Blumer C, Zimmermann DR, Weilenmann R, Vaughan L, Pospischil A. 2007. Chlamydiae in free-ranging and captive frogs in Switzerland. *Veterinary Pathology*. 44: 144-150.

- Bodetti TJ, Jacobson ER, Wan C, Hafner L, Pospischil A, Rose K, Timms P. 2002. Molecular evidence to support the expansion of the host range of *Chlamydophila pneumoniae* to include reptiles as well as humans, horses, koalas and amphibians. *Systematic and Applied Microbiology*. 25: 146-152.
- Bonaccorso E, Guayasamin JM, Méndez D, Speare R. 2003. Chytridiomycosis in a Venezuelan amphibian (Bufonidae: *Atelopus cruciger*). *Herpetological Review*. 2003. 34: 331-4.
- Boone MD, Semlitsch RD, Little EE, Doyle MC. 2007. Multiple stressors in amphibian communities: effects of chemical contamination, bullfrogs, and fish. *Ecological Applications* 17: 291-301.
- Borteiro C, Cruz JC, Kolenc F, Aramburu A. 2009. Chytridiomycosis in frogs from Uruguay. *Diseases of Aquatic Organisms*. 84: 159-162.
- Bosch J. 2003. Nuevas amenazas para los anfibios: enfermedades emergentes. Munibe. Donostia- San Sebastián. N° 16.
- Bosch J, Martínez-Solano I. 2005. Chytrid fungus infection related to unusual mortalities of *Salamandra salamandra* and *Bufo bufo* in the Peñalara Natural Park (Central Spain). *Oryx*. 40: 84-89.
- 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 of central Spain. *Biological Conservation*. 97: 331-7.
- Bradford D, Jaeger JR, Jennings RD. 2004. Population Status and distribution of a decimated amphibian, the Relict Leopard Frog (*Rana onca*). *The Southwestern Naturalist*. 49(2): 218-228.
- Bradford D. 1989. Allotopic distribution of native frogs and introduced fishes in high Sierra Nevada lakes of California: implication of the negative effect of fish introductions." *Copeia*. 1989: 775-778.
- Bradford DF, Tabatabai F, Graber DM. 1993. Isolation of remaining populations of the native frog, *Rana muscosa*, by introduced fishes in Sequoia and Kings Canyon National Parks, California. *Conservation Biology*. 7: 882-888.
- Brodeur JC, Suarez RP, Natale GS, Ronco AE, Zaccagnini ME. 2011. Reduced body condition and enzymatic alterations in frogs inhabiting intensive crop production areas. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 74: 1370-1380.
- Burrowes PA, Joglar RL, Green DE. 2004. Potential causes for amphibian declines in Puerto Rico. *Herpetologica*. 60: 141-154.
- Carey C. 1993. Hypothesis concerning the causes of the disappearance of boreal toads from the mountains of Colorado. *Conservation Biology*. 7: 355-362.
- Carey C, Cohen N, Rollins-Smith L. 1999. Amphibian declines: An immunological perspective. *Developmental and Comparative Immunology*. 23: 459-472.
- Carrick TR. 1979. The effects of acid water on the hatching of salmonids eggs. *Journal of Fish Biology*. 14: 165-172.
- Chai N, Deforges L, Sougakoff W, Truffot-Pernot C, DeLuzé A, Demeneix B, Clement M, Bomsel MC. 2006. Mycobacterium szulgai infection in a captive population of African clawed frogs (*Xenopus tropicalis*). *Journal of Zoological Wildlife Medicine*. 37: 55-58.
- Channing A, Finlow-Bates KS, Haarklau SE, Hawkes PG. 2006. The biology and recent history of the critically endangered kihansi spray toad *Nectophrynoides asperginis* in Tanzania. *Journal of East Africa Natural History*. 95: 117-138
- Clark HF, Brennan JC, Zeigel RF, Karzon. 1968. Isolation and characterization of viruses from the kidneys of *Rana pipiens* with renal adenocarcinoma before and after passage in red eft (*Triturus viridescens*). *Journal of Virology*. 2: 629-640.
- Croteau MC, Davidson MA, Lean DRS, Trudeau VL. 2008. Global Increases in Ultraviolet B Radiation: Potential Impacts on Amphibian Development and Metamorphosis. *Physiological and Biochemical Zoology*. 81(6): 743-761.
- Crump ML, Hensley ER, Clark KL. 1992. Apparent decline of the golden toad. Underground or extinct?. *Copeia*. 1992: 413-420.
- Cuello ME, Perotti MG. 2006 Decline of the endemic frog *Atelognathus patagonicus* from Laguna Blanca, Neuquén, Argentina: assessment of the effect of fish introduction. *FrogLog*. 73: 1-2.
- Cunningham AA, Langton TES, Bennett PM, Lewin JF, Drury SEM. 1995. Investigations into unusual mortalities of the common frog (*Rana temporaria*) in Britain. *Proceedings of the 5th International Colloquium on the Pathology of reptiles and amphibians*. The Netherlands, 1995.

- Cunningham AA, Langton TES, Bennett PM, Lewin JF, Drury SEM, Gough RE, Macgregor SK. 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. 351: 1539-1557.
- Daszak P, Berger L, Cunningham AA, Hyatt AD, Green DE, Speare R. 1999. Emerging infectious disease and amphibian population declines. Emerging Infectious Diseases. 5: 735-748.
- Daszak P, Striemy A, Cunningham AA, Longcore JE, Brown CC, Porter D. 2004. Experimental evidence that the bullfrog (*Rana catesbeiana*) is a potential carrier of chytridiomycosis, an emerging fungal disease of amphibians. Herpetological Journal. 14: 201-207.
- De Wijer P, Watt PJ, Oldham RS. 2003. Amphibian decline and aquatic pollution: effects of nitrogenous fertilizer on survival and development of larvae of the frog *Rana temporaria*. Applied Herpetology. 1: 3-12.
- Dennis A, Mahony M. 1994. Experimental translocation of the endangered sharp-snouted day frog *Taudactylus acutirostris* and observations of the cause of declines among montane riparian frogs. Unpublished report prepared for Wet Tropics Management Authority, Cairns.
- Densmore CL, Green DE. 2007. Diseases of amphibians. ILAR Journal. 48(3): 235-254.
- Drury SEN, Gough RE, Cunningham AA. 1995. Isolation of an iridovirus-like agent from common frogs (*Rana temporaria*). Veterinary Record. 137: 72-73.
- Duarte H, Tejedo M, Katzenberger M, Marangoni F, Baldo D, Beltrán JF, Martí DA, Richter-Boix A, Gonzalez-Voyer A. 2011. Can amphibians take the heat? Vulnerability to climate warming in subtropical and temperate larval amphibian communities. Global Change Biology. DOI: 10.1111/j.1365-2486.2011.02518.x
- Dusi JL. 1949. The natural occurrence of "Red leg", *Pseudomonas hydrophila* in a population of American toads *Bufo americanus*. Ohio Journal of Sciences. 49: 70-71.
- Fellers GM, Green DE, Longcore JE. 2001. Oral chytridiomycosis in the mountain yellow-legged frog (*Rana muscosa*). Copeia. 2001: 945-953.
- Fernandez-Beneitez MJ, Ortiz-Santaliestra ME, Lizana M, Dieguez-Uribeondo J. 2008. *Saprolegnia declina*: another species responsible for the emergent disease 'Saprolegnia infections' in amphibians. FEMS Microbiological Letters. 279: 23-29.
- Fisher RN, Shaffer HB. 1996. The decline of amphibians in California's Great Central Valley. Conservation Biology. 10: 1387-1397.
- Freda J. 1986. The influence of acidic pond water on amphibians. Water, Air and Soil Pollution. 30: 439-450.
- Gallant AL, Klaver RW, Casper GS, Lannoo MJ. 2007. Global rates of habitat loss and implications for amphibian conservation. Copeia. 2007: 967-79.
- García-Muñoz E, Guerrero F, Parra G. 2011. Effects of previous sublethal pulse to ammonium nitrate on mortality and total length on *Epidalia calamita* larvae. Chemosphere: 84: 671-675.
- Garner TWJ, Walker S, Bosch J, Hyatt AD, Cunningham AA, Fisher M. 2005. Chytrid Fungus in Europe. Emerging Infectious Diseases. 11(10): 1639-1641.
- Garner TWJ, Perkins M, Govindarajulu P, Seglie D, Walker SJ, Cunningham AA, Fisher MC. 2006. The emerging amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* globally infects introduced populations of the North American bullfrog, *Rana catesbeiana*. Biology Letters. 2: 455-459.
- Ghirardi R, López JA, Scarabotti PA, Steciow MM, Perotti MG. 2011. First record of the chytrid fungus in *Lithobates catesbeianus* from Argentina: exotic species and conservation. Revista Mexicana de Biodiversidad. RMB_2056.
- Gibbs EL, Nance GW, Emmons MB. 1971. The live frog is almost dead. BioScience. 21: 1027-1034.
- Gillespie GR, Hero JM. 1999. Potential impacts of introduced fish and fish translocation on Australian amphibians, pp. 131-144. En Campbell A (ed), Declines and Disappearances of Australian Frogs, Environment Australia, Canberra.
- Goorha R. 1995. Family Iridoviridae. Archives of Virology (Suppl.). 10: 85-99.
- Gorzula S. 1996. The trade in dendrobatid frogs from 1987 to 1993. Herpetological Review. 27: 116-123.
- Green SE, Bouley DM, Tolwani RJ, Waggle KS, Lifland BD, Otto GM, Ferrell JE Jr. 1999. Identification and management of an outbreak of *Flavobacterium menigosepticum* infection in a colony of South African clawed frogs (*Xenopus laevis*). Journal of the American Veterinary Medicine Association. 214: 1833-1838.
- Greenbaum ELI, Kusaba C, Aristote MM, Reed K. 2008. Amphibian chytrid fungus infections in *Hyperolius* (Anura: Hyperoliidae) from Eastern Democratic Republic of Congo. Herpetological Review. 39(1): 70-73.

- Harte J, Hoffman E. 1989. Possible effects of acidic deposition on a Rocky Mountain population of the tiger salamander *Ambystoma Tigrinum*: Conservation Biology, 3: 149-158
- Herrera RA, Steciow MM, Natale GS. 2005. Chytrid fungus parasitizing the wild amphibian *Leptodactylus ocellatus* (Anura: Leptodactylidae) in Argentina. Diseases of Aquatic Organisms. 64: 247-252.
- Heyer WR, Rand SA, Dacruz CAG, Peixoto OL. 1988. Decimations, extinctions and colonizations of frog populations in southeast Brazil and their evolutionary implications. Biotropica. 20: 230-235.
- Hopkins S, Channing A. 2003. Chytrid fungus in Northern and Western Cape frog populations, South Africa. Herpetological Review. 34: 334-336.
- Hyatt AD, Parkes H, Zupanovic Z. 1998. Identification, characterization and assessment of Venezuelan viruses for potential uses as biological control agents against the cane toad (*Bufo marinus*) in Australia. Report to the Australian Federal Government and Environment Australia.
- Ingram G, McDonald KR. 1993. An update on the decline of Queensland's frogs. pp 297-303. En: Lunney D, Ayers D (eds) Herpetology in Australia: a diverse discipline. Transactions of the Royal Zoology Society of New South Wales. Mosman. IUCN, 2008. An Analysis of Amphibians on the 2008 IUCN Red List. Summary of Key Findings. http://www.iucnredlist.org/amphibians/key_findings.
- Jacobson E, Origgi F, Heard D, Detrisac C. 2002. Immunohistochemical staining of chlamydial antigen in emerald tree boas (*Corallus caninus*). Journal of Veterinary Diagnostic and Investigation. 14: 487-494.
- Jancovich JK, Davidson EW, Morado JF, Jacobs BL, Collins JP. 1997. Isolation of a lethal virus from the endangered tiger salamander *Ambystoma tigrinum stebbinsi*. Diseases of Aquatic Organisms. 31: 161-167.
- Jennings MR, Hayes MP. 1985. Pre-1900 overharvest of California red-legged frogs (*Rana aurora draytonii*): The inducement for bullfrog (*Rana catesbeiana*) introduction. Herpetologica. 41: 94-103.
- Johnson PTJ, Lunde KB, Ritchie EG, Launer AE. 1999. The effect of trematode infection on amphibian limb development and survivorship. Science 284: 802-804.
- Johnson PTJ, Lunde KB, Thurman EM, Ritchie EG, Wray SN, Sutherland DR, Kapfer JM, Frest TJ, Bowerman J, Blaustein AR. 2002. Parasite (*Ribeiroia ondatrae*) infection linked to amphibian malformations in the Western United States. Ecological Monographs. 72: 151-168.
- Johnson PTJ. 2006. Amphibian diversity: decimation by disease. PNAS. 103(9): 3011-3012.
- Kats LB, Ferrer RP. 2003. Alien predators and amphibian declines: Review of two decades of science and the transition to conservation. Diversity & Distributions. 9: 99-110.
- Keller CB, Shilton CM. 2002. The amphibian eye. Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice. 5: 261-274.
- Kiesecker JM, Blaustein AR. 1995. Synergism between UV-B radiation and a pathogen magnifies amphibian embryo mortality in nature. Proceedings of the National Academy of Sciences. 92: 11049-11052.
- Kiesecker JM, Blaustein AR. 1997. Influences of egg laying behaviour on pathogenic infection of amphibian eggs. Conservation Biology. 11: 214-220.
- Kiesecker JM, Blaustein AR, Miller CL. 2001. Transfer of a pathogen from fish to amphibians. Conservation Biology. 15: 1064-1070.
- Kilpatrick AM, Briggs CJ, Daszak P. 2010. The ecology and impact of chytridiomycosis: an emerging disease of amphibians. Trends in Ecology and Evolution. 25(2): 109-118.
- Krishnamurthy SV, Smith GR. 2011. Combined effects of malathion and nitrate on early growth, abnormalities, and mortality of wood frog (*Rana sylvatica*) tadpoles. Ecotoxicology. 20: 1361-1367.
- Kusrini MD, Skerratt LF, Garland S, Berger L, Endarwin W. 2008. Chytridiomycosis in frogs of Mount Gede Pangrango, Indonesia. Diseases Aquatic Organisms. 82: 187-194.
- La Marca E., Reinhthaler HP. 1991. Population changes in *Atelopus* species of the Cordillera de Mérida, Venezuela. Herpetological Review. 22(4): 125-128.
- Langdon JS. 1989. Experimental transmission and pathogenicity of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) in red-fin perch, *Perca fluviatilis* L., and 11 other teleosts. Journal of Fish Diseases. 12: 295-310.
- Laurence WF. 1996. Catastrophic declines of Australian rainforest frogs: Is unusual weather responsible? Biological Conservation. 77: 203-212.
- Laurence WF, McDonald KR, Speare R. 1996. Epidemic disease and the catastrophic decline of Australian rainforest frogs. Conservation Biology. 10: 406-413.
- Lavilla EO. 2003. Economía, Educación y Conservación. El costo de nuestra ignorancia. Natura Neotropicalis. 33: 95-101.

- Lavilla EO. 2008. Declinaciones poblacionales y extinciones en Anfibios de Argentina. Anticipo de Anales de la Academia Nacional de Ciencias de Buenos Aires. 7 pp.
- Lehtinen RM, Galatowitsch SM, Tester JR. 1999. Consequences of habitat loss and fragmentation for wetland amphibian assemblages. *Wetlands*. 19(1): 1-12.
- Letcher PM, Powell MJ, Churchill PF, Chambers JG. 2006. Ultrastructural and molecular phylogenetic delineation of a new order, the Rhizophydiales (Chytridiomycota). *Mycological Research* 110: 898-915.
- Lillo F, Faraone F, Lo Valvo M. 2011. Can the introduction of *Xenopus laevis* affect native amphibian populations? Reduction of reproductive occurrence in presence of the invasive species. *Biological Invasions*. 13: 1533-1541.
- Lips KR. 1998. Decline of a tropical montane amphibian fauna. *Conservation Biology*. 12: 106-117.
- Lips KR. 1999. Mass mortality and population declines of anurans at an upland site in eastern Panama. *Conservation Biology*. 13: 117-125.
- Lips K, Donnelly MA. 2005. What the topics can tell us about declining amphibian populations: Current patterns and future prospects. In Lannoo MJ (ed.). *North American amphibians: Status and conservation*, pp. 388-406. University of California Press, Berkeley, California.
- Lips K, Reeve JD, Witters L. 2003. Ecological traits predicting amphibian population declines in Central America. *Conservation Biology*. 17: 1078-1088.
- Lips KR, Burrowes PA, Mendelson JR, Parra-Olea G. 2005. Amphibian population declines in Latin America: A synthesis. *Biotropica*. 37: 222-226.
- Lips KR, Diffendorfer J, Mendelson JR III, Sears MW. 2008. Riding the wave: Reconciling the roles of disease and climate change in amphibian declines. *PLoS Biol*. 6(3): e72.
- Lips K, Mendelson JI, Munoz-Alonso A, Canseco-Marquez L, Mulcahy D. 2004. Amphibian population declines in montane southern Mexico: resurveys of historical localities. *Biological Conservation*. 2004: 119: 555-564.
- Lips KR, Brem F, Brenes R, Reeve JD, Alford RA. 2006. Emerging infectious disease and the loss of biodiversity in a Neotropical amphibian community. *Proceedings of the National Academy of Science USA*. 103: 3165-3170.
- Lizana M, Pedraza EM. 1998. The effects of UV-B radiation on toad mortality in mountainous areas of central Spain. *Conservation Biology*. 12: 703-707.
- Long LE, Saylor LE, Soulé ME. 1995. A pH-UV-B synergism in amphibians. *Conservation Biology*. 9: 1301-1303.
- Longcore JC, Pessier AP, Nichols DK. 1999. *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia*. 91: 219-227.
- López JA. 2009. Ecología trófica de anuros en ambientes ribereños de la provincia de Santa Fe (Argentina) y su relación con alteraciones ambientales. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Universidad Nacional de La Plata. 270pp.
- Mahony M. 1996. The decline of the Green and Golden Bell Frog *Litoria aurea* viewed in the context of declines and disappearances of other Australian frogs. *Australian Zoology*. 30(2): 237-247.
- Mao J, Green DE, Fellers G, Chinchar VG. 1999. Molecular characterization of iridoviruses isolated from sympatric amphibians and fish. *Virus Research*. 63: 45-52.
- Maruf H. 2004. National Report of Bangladesh. On Sustainable Management of the Bay of Bengal Large Marine Ecosystem (BOBLME), GCP/RAS/179WBC, FAO), BOBLME Programme in Bangladesh. p.4-9.
- Mazanti L, Sparling D, Rice C, Bialek K, Stevenson C, Teels B. 2003. Synergistic effects of a combined exposure to herbicides and an insecticide in *Hyla versicolor*. En: Linder G, Krest S, Sparling D, Little E (eds). *Multiple stressor effects in relation to declining amphibian populations*. ASTM STP 1443. West Conshohocken, PA: American Society for Testing Materials. 111-129.
- McDonald KR. 1990. *Rheobatrachus liem* and *Taudactylus straughan* and Lee (Anura: Leptodactylidae) in Eungella National Park, Queensland: distribution and decline. *Transactions of the Royal Society of Australia*. 114(4): 187-194.
- McNellie M, Hero JM. 1994. Mission amphibian. The search for the missing rainforest frogs of Eungella. *Wildlife Australia*. 31(4): 22-23.
- Merino-Viteri AR. 2001. Análisis de las posibles causas de las disminuciones de las poblaciones de anfibios en los Andes de Ecuador. Tesis de Licenciatura, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.
- Moody NJG, Owens L. 1994. Experimental demonstration of the pathogenicity of a frog virus *Bohle iridovirus* for a fish species, barramundi *Lates calcarifer*. *Diseases of Aquatic Organisms*. 18: 95-102.

- Morehouse EA, James TY, Ganley ARD, Vilgalys R, Berger L, Murphy PJ, Longcore JE. 2003. Multilocus sequence typing suggests the chytrid pathogen of amphibians is a recently emerged clone. *Molecular Ecology* 12: 395-403.
- Morgan JAT, Vredenburg VT, Rachowicz LJ, Knapp RA, Stice MJ, Tunstall T, Bingham RE, Parker JM, Longcore JE, Moritz C, Briggs CJ, Taylor JW. 2007. Population genetics of the frog killing fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 104(34): 13845-13850.
- Nori J, Akmentins MS, Ghirardi R, Frutos N, Leynaud G. 2011. American bullfrog invasion in Argentina: Where should we take urgent measures? *Biodiversity and Conservation*. DOI 10.1007/s10531-011-0014-3.
- Olson ME, Gard S, Brown M, Hampton R, Morck DW. 1992. *Flavobacterium indologenes* infection in leopard frogs. *Journal of American Veterinary Medicine Association*. 201: 1766-1770.
- Ouellet M, Mikaelian I, Pauli BD, Rodrigue J, Green DM. Historical evidence of widespread chytrid infection in North American Amphibian populations. 2003 Joint Meeting of Ichthyologists and Herpetologists, 26 June–1 July 2003, Manaus, Amazonas, Brazil. http://lists.allenpress.com/asih/meetings/2003/abstracts_IV_2003.pdf.
- Ovaskainen O, Hanski I. 2003. Extinction threshold in metapopulation models. *Annales Zoologici Fennici*. 40(2): 81-97.
- Pedersen AB, Jones KE, Nunn CL, Altizer S. 2007. Infectious diseases and extinction risk in wild mammals. *Conservation Biology*. 21: 1269-1279
- Péfaur JE, Sierra NM. 1998. Distribución y densidad de la trucha *Oncorhynchus mykiss* (Salmoniformes: Salmonidae) en los Andes Venezolanos. *Revista de Biología Tropical*. 46(3): 1-8.
- Peltzer PM, Lajmanovich RC, Beltzer AH. 2003. The effects of habitat fragmentation on amphibian species richness in the floodplain of the middle Parana River. *Herpetological Journal*. 13(2): 95-98.
- Pessier AP, Nichols DK, Longcore JE, Fuller MS. 1999. Cutaneous chytridiomycosis in poison dart frogs (*Dendrobates spp.*) and White's tree frogs (*Litoria caerulea*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 11: 194-199.
- Picco AM, Collins JP. 2008. Amphibian commerce as a likely source of pathogen pollution. *Conservation Biology*. 22: 1582-1589.
- Pounds JA, Fogden MPL, Campbell JH. 1999. Biological response to climate change on a tropical mountain. *Nature*. 398: 611-615.
- Poynton SL, Whitaker BR. 2001. Protozoa and metazoan infecting amphibians. En: Wright KM, Whitaker BR (eds) *Amphibian Medicine and Captive Husbandry*. Malabar FL: Krieger Publishing Company. p 193- 221.
- Puschendorf R. 2003. *Atelopus varius* (harlequin frog) fungal infection. *Herpetological Review*. 34: 355.
- Rachowicz LJ, Hero JM, Alford RA, Taylor JW, Morgan JAT, Vredenburg VT, Collins JP, Briggs CJ. 2005. The Novel and Endemic Pathogen Hypotheses: Competing Explanations for the Origin of Emerging Infectious Diseases of Wildlife. *Conservation Biology*. 19(5): 1441-1448.
- Ranvestel TW, Lips KR, Pringle CM, Whiles MR, Bixby RJ. 2004. Neotropical tadpoles influence stream benthos: Evidence for ecological consequences of amphibian declines. *FW Biol*. 49: 274-285.
- Richards SJ, McDonald KR, Alford RA. 1993. Declines in populations of Australia's endemic tropical rainforest frogs. *Pacific Conservation Biology*. 1: 66-77.
- Robinson J, Griffiths RA, Jeffries P. 2003. Susceptibility of frog (*Rana temporaria*) and toad (*Bufo bufo*) eggs to invasion by *Saprolegnia*. *Amphibia-Reptilia*. 24: 261-268.
- Rollins-Smith LA, Reinert LK, Miera V, Conlon JM. Antimicrobial peptide defenses of the Tarahumara frog, *Rana tarahumarae*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2002. 297: 361-7.
- Romansic JM, Johnson PTJ, Searle CL, Johnson JE, Tunstall TS, Han BA, Rohr JR, Blaustein AR. 2011. Individual and combined effects of multiple pathogens on Pacific treefrogs. *Oecologia*: 166: 1029-1041.
- Ron SR, Merino-Viteri A. 2000. Declinación de anfibios del Ecuador: Información general y primer reporte de chytridiomycosis para Sudamérica. *Froglog*. 42: 2.
- Rowley JL, Chan SKF, Tang WT, Speare R, Skerratt LF, Alford RA, Cheung KS, Ho CY, Campbell R. 2007. Survey for the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis* in Hong Kong in native amphibians and in the international amphibian trade. *Diseases of Aquatic Organisms*. 78: 87-95.
- Russell DM, Goldberg CS, Sprague L, Waits LP, Green DE, Schuler KL, Rosenblum EB. 2011. Ranavirus outbreaks in amphibian populations of northern Idaho. *Herpetological Review*. 42: 223-225.
- Ruthig GR. 2009. Water molds of the genera *Saprolegnia* and *Leptolegnia* are pathogenic to the North American frogs *Rana catesbeiana* and *Pseudacris crucifer*, respectively. *Diseases of Aquatic Organisms*. 84: 173-178.

- Sala OE, Chapin FS III, Armesto JJ, Berlow R, Bloomfield J, Dirzo R, Huber-Sanwald E, Huenneke LF, Jackson RB, Kinzig A, Leemans R, Lodge D, Mooney HA, Oesterheld M, Poff NL, Sykes MT, Walker BH, Walker M, Wall DH. 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science*. 287: 1770-1774.
- Salas A. 1995. Herpetofauna peruana: una visión panorámica sobre investigación, conservación y manejo. *Biotempo*. 2: 125-137.
- Sanabria EA, Quiroga LB, Acosta JC. 2005. Introducción de la *Rana catesbeiana* (Rana toro) en ambientes Pre-cordilleranos de la Provincia de San Juan, Argentina. *Multequina*. 14: 65-68.
- Schadich E, Cole ALJ. 2010. Pathogenicity of *Aeromonas hydrophila*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis* to Brown Tree Frogs (*Litoria ewingii*). *Comparative Medicine*. 60: 114-117.
- Schlaepfer MA, Hoover C, Dodd Jr CK. 2005. Challenges in evaluating the impact of the trade in amphibians and reptiles on wild populations. *BioScience*. 55(3): 256-264.
- Seimon TA, Hoernig G, Sowell P, Halloy S, Seimon A. 2005. Identification of chytridiomycosis in *Telmatobius marmoratus* at 4.450 m in the Cordillera Vilcanota of southern Peru. En: Lavilla EO, de la Riva I (eds). *Studies on the Andean frogs of the genera Telmatobius and Batrachophrynos* pp. 275-283. *Monografías de Herpetología 7*. Asociación Herpetológica Española, Valencia.
- Semlitsch RD. 2000. Principles for management of aquatic-breeding amphibians. *Journal of Wildlife Management* 64(3): 615-631.
- Singh A, Agrawal M. 2008. Acid rain and its ecological consequences. *Journal of Environmental Biology*. 29(1): 15-24.
- Smith M. 1953. The shortage of toads and frogs: Is it due to the demands of hospitals and teaching centers? *County Life*. 114: 770-771.
- Smith KG, Acevedo-Whitehouse K, Pedersen AB. 2009. The role of infectious diseases in biological conservation. *Animal Conservation*. 12: 1-12.
- Smith KG, Weldon C, Conradie W, Du Preez LH. 2007. Relationships among size, development, and *Batrachochytrium dendrobatidis* infection in African tadpoles. *Disease of Aquatic Organisms*. 74: 159-164.
- Soares C, Matos DA, Arntzen AA, Carretero JW, M., Loureiro, A. 2003 Amphibian mortality in a National Park in the North of Portugal. *Froglog*. 56.
- Solís F, Ibáñez R, Hammerson G, Hedges B, Diesmos A, Matsui M, Hero JM, Richards S, Coloma L, Ron S, La Marca E, Hardy J, Powell R, Bolaños F, Chaves G, Ponce P. 2008. *Rhinella marina*. En: IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1. <www.iucnredlist.org>.
- Soto-Azat, C, Clarke BT, Poynton JC, Cunningham AA. 2009. Widespread historical presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* in African pipid frogs. *Diversity and Distributions*. 2009: 1-6.
- Sparling DW. 1995. Acidic deposition: a review of biological effects. pp 301-332. En: Hoffman DJ, Rattner BA, Burton GA, Cairns J (eds). *Handbook of ecotoxicology*. Lewis Publishers, Boca Raton. Florida.
- Speare R, Smith JR. 1992. An iridovirus-like agent isolated from the ornate burrowing frog *Limnodynastes ornatus* in northern Australia. *Diseases of Aquatic Organisms*. 14: 51-57.
- Steiner S, Lehtinen R. 2008. Occurrence of the amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* in Blanchard's cricket frog (*Acris crepitans blanchardi*) in the US midwest. *Herpetological Review*. 39(2): 193-196.
- Stewart MM. 1995. Climate Driven Population Fluctuations in rainforest Frogs. *Journal of Herpetology*. 29: 437-446.
- Stuart SN, Chanson JS, Cox NA, Young BE, Rodrigues ASL, Fischman DL, Waller RW. 2004. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science*. 306: 1783-1786.
- Taylor SK, Green DE, Wright KM, Whitaker BR. 2001. Bacterial diseases. In: Wright KM, Whitaker BR (eds) *Amphibian Medicine and Captive Husbandry*. Malabar FL: Krieger Publishing Company. p 159-179.
- Teixeira RD, Pereira Mello SCR, Lima Dos Santos CAM. 2001. The world market for frog legs. *Food and Agriculture Organization of the United Nations, Globefish Research Programme, Rome, Italy*.
- Tiberti R. 2011. Widespread bacterial infection affecting *Rana temporaria* tadpoles in mountain areas. *Acta Herpetologica*. 6: 1-10.
- Todd BD, Scott DE, Pechmann JHK, Gibbons JW. 2011. Climate change correlates with rapid delays and advancements in reproductive timing in an amphibian community. *Journal of Herpetology*. 45(4): 619-625.
- Toledo LF, Haddad CFB, Carnaval AOQ, Britto FB. 2006. A Brazilian anuran (*Hylodes magalhaesi*: Leptodactylidae) infected by *Batrachochytrium dendrobatidis*: a conservation concern. *Amphibian and Reptile Conservation*. 4: 17-21.
- Tyler MJ. 1991. Where have all the frogs gone? *Australian Natural History*. 23(8): 618-625.

- Venter O, Brodeur NN, Nemiroff L, Belland B, Dolinsek JJ, Grant JWA. 2006. Threats to Endangered Species in Canada. *Bioscience*. 56(11): 903-910.
- Waldman B, Van de Wolfshaar KE, Klena JD, Andjic V, Bishop PJ, Norman RJdeB. 2001. Chytridiomycosis in New Zealand frogs. *Surveillance*. 2001. 28: 9-11.
- Weldon C. 2002. Chytridiomycosis survey in South Africa. *Froglog*. 2002. 51: 1-2.
- Weldon C, Du Preez LH, Hyatt AD, Muller R, Speare R. 2004. Origin of the amphibian chytrid fungus. *Emerging Infectious Diseases*. 10: 2100-2105.
- Weygoldt P. 1989. Changes in the composition of mountain stream frog communities in the Atlantic mountains of Brazil: frogs as indicators of environmental deteriorations? *Studies of Neotropical Fauna and Environment*. 243: 249-255.
- Whelpdale DM. 1983. Acid deposition, distribution and impact. *Water Quality Bulletin*. 8: 72-80.
- Whittington RJ, Hyatt AD. 1997. Diagnosis and prevention of epizootic haematopoietic necrosis virus infection. Proceeding of the National Research Institute of Aquaculture International Workshop: new approaches to viral diseases of aquatic animals. Kyoto, Japan. National Research Institute of Aquaculture, 1997.
- Williams RW. 1960. Observation of the live history of *Rhabdias sphaerocephala* Goodey 1924 from *Bufo marinus* L., in the Bermuda Islands. *Journal of Helminthology*. 34: 93-98.
- Wolf K, Bullock GL, Dunbar CE, Quimby MC. 1968. Tadpole edema virus: a viscerotropic pathogen for anuran amphibians. *Journal of Infectious Diseases*. 118: 253-262.
- Wright KM. 2006. Overview of amphibian medicine. En: Mader DR (ed) *Reptile Medicine and Surgery*. 2nd ed. St. Louis: Saunders, Elsevier. P 941-971.
- Yang H, Baek H, Speare R, Webb R, Park S, Kim T, Lasater KC, Shin S, Son S, Park J, Min M, Kim Y, Na K, Lee H, Park SC. 2009. First detection of the amphibian chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* in free-ranging populations of amphibians on mainland Asia: survey in South Korea. *Diseases of Aquatic Organisms*. 86: 9-13.
- Young BE, Stuart SN, Chanson JS, Cox NA, Boucher TM. 2004. Joyas que están desapareciendo: el estado de los anfibios en el Nuevo Mundo. NatureServe. Arlington, Virginia, USA. 53 pp.
- Young BE, Lips KR, Reaser JK, Ibanez R, Salas AW, Cedeno JR, Coloma LA, Ron S, La Marca E, Meyer JR, Munoz A, Bolanos F, Chaves G, Romo D. 2001. Population declines and priorities for amphibian conservation in Latin America. *Conservation Biology*. 15(5): 1213-1223.
- Yumi U, Kadekaru S, Tamukai K, Goka K, Kuroki T. 2008. First report of spontaneous chytridiomycosis in frogs in Asia. *Diseases of Aquatic Organisms*. 82: 157-160.
- Zellmer AJ, Richards CL, Martens LM. 2008. Low Prevalence of *Batrachochytrium dendrobatidis* Across *Rana sylvatica* Populations in Southeastern Michigan, USA. *Herpetological Review*, 39(2): 196-199.
- Zhang, QY, Li, ZQ, Gui JF. 1999. Studies on morphogenesis and cellular interactions of *Rana grylio* virus in an infected fish cell line. *Aquaculture*. 175: 185-197.

CAPITULO II

“... No existen individuos brillantes sin entornos extraordinarios ...”
(Ramón Margalef)

PRESENCIA DE *Batrachochytrium dendrobatidis* EN ESPECIES DE ANUROS AUTÓCTONAS DE ARGENTINA

INTRODUCCIÓN

La República Argentina ocupa geopolíticamente un área marcada por una amplia distribución latitudinal que le brinda una variedad de paisajes con características ambientales adecuadas para el desarrollo de *Bd* (Ghirardi *et al.* 2011). En el país habitan alrededor de 170 especies de anuros nativos (Lavilla *et al.* 2000, Lavilla y Baldo 2011), algunas de ellas de especial importancia por ser endémicas o microendémicas, por estar en algún grado de peligro o por prosperar en regiones destacadas a nivel global (Patagonia, Selva Paranaense) (Mittermeier *et al.* 1998, Perotti *et al.* 2005, Brooks *et al.* 2006). Sin embargo, la presencia y el grado de incidencia del hongo quitridial en las poblaciones silvestres de anfibios autóctonos, son desconocidas, o han sido muy poco estudiadas (Herrera *et al.* 2005). En general, los registros de *Bd* con que se cuenta se produjeron en base a encuentros fortuitos de ejemplares muertos y moribundos y no a un muestreo sistemático de búsqueda de casos de quitridiomycosis (Herrera *et al.* 2005, Barrionuevo y Mangione 2006, Arellano *et al.* 2009a, Ghirardi *et al.* 2009a). Aunque este tipo de muestras tomadas en forma oportunista permiten obtener los primeros datos del estado sanitario de poblaciones silvestres y la identificación de factores limitantes para su recuperación (Beldomenico *et al.* 2003), desde aquel reporte se han comenzado una serie de estudios mas sistemáticos sobre la incidencia de *Bd* en anuros de Argentina.

El registro de evidencia más antigua del hongo en un anfibio nativo de Argentina, se publicó en el año 2005 y pertenece a un ejemplar de *Leptodactylus latrans* encontrado muerto en la Provincia de Buenos Aires en julio del 2002 (Tabla 1). El individuo se hallaba en la margen del arroyo El Pescado (35° 01' S, 57° 51' O; 11msnm) (Herrera *et al.* 2005). Luego de esta observación, los mencionados autores realizaron una búsqueda activa en la misma área para documentar y cuantificar la presencia de anuros muertos o moribundos en la comunidad de anuros del lugar, compuesta por 14 especies. Durante ese muestreo se encontraron 11 individuos muertos de *L. latrans*, confirmándose la presencia del quitridio mediante análisis histológicos en 4 de ellos. Resulta interesante destacar que el sitio es monitoreado de manera continua desde el

año 1998, lo que permitió datar el momento de la emergencia de la quitridiomycosis de manera precisa, siendo el del año 2002, el único evento de mortalidad registrado (Herrera *et al.* 2005). En base al grado de infección que presentaban los anuros, Herrera *et al.* (2005) no pudieron concluir que la mortalidad de los ejemplares se debió exclusivamente a la quitridiomycosis, sugiriendo que un conjunto de factores habrían actuado de manera sinérgica.

En el año 2006 una nueva publicación reporta la presencia de *Bd* en dos especies del género *Telmatobius* de la región noroeste del país colectados en el año 2003 (Barrionuevo y Mangione 2006). En este caso, se colectaron tres individuos de *T. atacamensis* en Los Patos (24° 14' 50'' S, 66° 13' 57.9'' O; 3885msnm), en la Provincia de Salta y un individuo de *T. pisanoi* sobre el río Los Zarzos (26° 21' 11.7'' S, 66° 02' 45.2'' O; 2352msnm), cerca de la localidad de El Pichao, en la Provincia de Tucumán (Tabla 1). Los ejemplares infectados fueron encontrados muertos. Este fue el primer caso de *Bd* en Argentina para especies que presentan alguna categoría de riesgo de extinción [*T. atacamensis*: En Peligro Crítico de Extinción (Lavilla 2004a) y *T. pisanoi*: En Peligro de Extinción (Lavilla 2004b)].

Al año siguiente, en el verano de 2004, Fox *et al.* (2006) registraron la presencia de *Bd* en una población de *Atelognathus patagonicus* que habita la Laguna Molle en el Parque Nacional Laguna Blanca (PNLB, Provincia de Neuquén) (39° S, 70 ° O; 1406msnm) (Tabla 1). La especie reside solo en las lagunas pequeñas del PNLB, ya que desde 1980 no se la ha visto en el cuerpo de agua principal del parque, la Laguna Blanca. En su estudio, Fox *et al.* (2006) encontraron *Bd* y ranavirus en los ejemplares analizados. Este registro representa el segundo hallazgo para Argentina del hongo quitridial parasitando una especie categorizada en riesgo [*A. patagonicus*: En Peligro de Extinción (Úbeda *et al.* 2008)] y el primero registrado en una población que reside dentro de un área natural protegida.

Posteriormente, a fines de la primavera de 2005, se produjo un nuevo registro de *Bd*, ésta vez en una población misionera del sapito aceituna (*Elachistocleis bicolor*). El ejemplar fue encontrado muerto en las márgenes de la Ruta Nacional N° 12, camino a Posadas (27° 26' 37,3'' S, 56° 01' 43'' O; 122msnm; Provincia de Misiones) (Tabla 1). La especie no se encuentra categorizada bajo ningún tipo de riesgo de extinción, pero los autores del trabajo destacan la importancia del hallazgo debido a que representa uno de los registros más sureños de *Bd* en la ecorregión de la Selva Paranaense (Arellano *et al.* 2009a), región de elevada diversidad tanto de América del Sur como del mundo (Mittermeier *et al.* 1998, Brooks *et al.* 2006).

Entre el año 2005 y 2006 se registraron nuevos casos de *Bd* en individuos del género *Leptodactylus*. El primer caso corresponde a dos ejemplares de *L. latrans* de la Provincia de Buenos Aires, uno hallado en la Reserva Natural Punta Lara (34° 47' S, 58° 01' O; 1msnm) y el otro en el Camino a Isla Santiago (34° 50' S, 57° 56' O; 7msnm); los sitios se encuentran distanciados por aproximadamente nueve kilómetros (Arellano *et al.* 2006). En el año 2005, un ejemplar de *L. latrans* fue encontrado muerto en la región de Chaco Serrano de la Provincia de

Córdoba, sobre el riachuelo Toro Muerto (31° 23' 48'' S, 64° 35' 37'' O; 1300msnm). En las cercanías del mismo sitio, en marzo del siguiente año se encontró un individuo muerto de *L. gracilis* (31° 23' 08'' S, 64° 36' 20'' O, 950msnm). Ambos ejemplares resultaron positivos para el hongo quitridial (Ghirardi *et al.* 2009a). El siguiente registro de *Bd* se produjo también en la región de Chaco Serrano pero en larvas de *Hypsiboas cordobae* y *Odontophrynus occidentalis* colectadas en octubre de 2009 en la Reserva Natural Estricta “Quebrada de las Higueritas” (Provincia de San Luis) (32° 24' 10'' S, 65° 55' 37'' O; 800msnm), representando el segundo encuentro de *Bd* en un área natural protegida (Gutierrez *et al.* 2010) (Tabla 1).

A partir de estos hallazgos, se comenzó a realizar una búsqueda periódica de casos de quitridiomycosis por parte de diversos grupos de investigación y, como consecuencia de estos monitoreos, los registros de infecciones en anuros por el hongo quitridial fueron aumentando. Por ejemplo, en la Provincia de Buenos Aires se presentaron nuevos casos en diversas especies. Por un lado, Agostini *et al.* (2010) registraron *Bd* en *L. latrans*, *Pseudis minutus*, *H. pulchellus* y *Rhinella fernandezae* en un muestreo realizado entre septiembre de 2009 y abril de 2010 en diversos agroecosistemas ubicados en los alrededores de la ciudad de La Plata (34° 56' 05'' S, 58° 04' 31'' O; 23msnm y 35° 01' 08'' S, 57° 51' 28'' O; 7msnm) (Tabla 1). Por otro lado, Delgado *et al.* (2010) registraron *Bd* en ejemplares de *Physalaemus fernandezae* de una población que se reproduce en invierno en los pastizales inundados de la Reserva Natural Punta Lara, Partido de Ensenada (34° 48' 11.93'' S, 58° 0' 35.70'' O; 1msnm). Recientemente, en la Provincia de Córdoba se reportó nuevamente la presencia de *Bd*. Entre agosto de 2009 y abril de 2010, Longo *et al.* (2010) detectaron anfibios infectados en la Pampa de Achala. Los ejemplares de las 5 especies analizadas (*H. cordobae*, *O. achalensis*, *Pleurodema kriegi*, *R. achalensis* y *R. arenarum*) fueron colectados muertos o moribundos en arroyos de la región y todas las especies resultaron positivas para *Bd* (Tabla 1). Cuatro de estas especies poseen una distribución restringida dentro del sistema Sierras Grandes (1600-2600msnm) de las Provincias de Córdoba y San Luis (Lavilla *et al.* 2008, Lavilla y di Tada 2004a 2004b) y una ha sido categorizada como vulnerable por UICN (*O. achalensis*: Lavilla y di Tada 2004b).

Cabe destacar que, salvo excepciones [*T. atacamensis* (Barrionuevo y Mangione 2006) y *L. latrans* (Herrera *et al.* 2005)], todas las infecciones encontradas fueron de mediana a baja intensidad, con baja o nula presencia de hiperqueratosis o hiperplasia y escasos síntomas externos de la infección (Herrera *et al.* 2005, Arellano *et al.* 2006, 2009a, Barrionuevo y Mangione 2006, Fox *et al.* 2006, Ghirardi *et al.* 2009a, Agostini *et al.* 2010, Delgado *et al.* 2010, Gutierrez *et al.* 2010, Longo *et al.* 2010) (Tabla 1).

Tabla 1. Registros de presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* en anfibios de Argentina. Detalle de los síntomas reportados por los autores para las distintas especies.

Provincia	Especie	Referencia	Infección
Buenos Aires	<i>Leptodactylus latrans</i>	Herrera <i>et al.</i> 2005	Leve: erosión focal con 4 a 10 esporangios. Severa: esporangios aislados en toda la superficie del epitelio corneo, hiperqueratosis.
	<i>L. latrans</i>	Arellano <i>et al.</i> 2006	Mediana?
	<i>L. latrans</i>	Agostini <i>et al.</i> 2010	Leve
	<i>Hypsiboas pulchellus</i>	Agostini <i>et al.</i> 2010	Leve
	<i>Pseudis minutus</i>	Agostini <i>et al.</i> 2010	Leve
	<i>Rhinella fernandezae</i>	Agostini <i>et al.</i> 2010	Leve
	<i>Physalaemus fernandezae</i>	Delgado <i>et al.</i> 2010	Leve: esporangios vacíos e hiperplasia.
Córdoba	<i>L. gracilis</i>	Ghirardi <i>et al.</i> 2009	Leve: esporangios en diferentes estadios en el estrato córneo.
	<i>L. latrans</i>	Ghirardi <i>et al.</i> 2009	Leve: esporangios en diferentes estadios en el estrato córneo.
	<i>H. cordobae</i>	Longo <i>et al.</i> 2010	¿?
	<i>L. latrans</i>	Longo <i>et al.</i> 2010	¿?
	<i>Odontophrynus achalensis</i>	Longo <i>et al.</i> 2010	¿?
	<i>Pleurodema kriegi</i>	Longo <i>et al.</i> 2010	¿?
	<i>R. achalensis</i>	Longo <i>et al.</i> 2010	¿?
	<i>R. arenarum</i>	Longo <i>et al.</i> 2010	¿?
Misiones	<i>Elachistocleis bicolor</i>	Arellano <i>et al.</i> 2009	Leve: esporangios en diferentes estadios, hiperqueratosis leve a moderada y erosión focal.
Neuquén	<i>Atelognathus patagonicus</i>	Fox <i>et al.</i> 2006	Mediana?
Salta	<i>Telmatobius atacamensis</i>	Barrionuevo y Mangione 2006	Severa: esporangios en diferentes estadios, engrosamiento del epitelio, estrato córneo desprendido con alto número de esporangios.
San Luis	<i>H. cordobae</i>	Gutiérrez <i>et al.</i> 2010	Leve?
	<i>O. occidentalis</i>	Gutiérrez <i>et al.</i> 2010	Leve?
Tucumán	<i>T. pisanoi</i>	Barrionuevo y Mangione 2006	¿?

JUSTIFICACION Y OBJETIVOS

La quitridiomycosis está considerada como una de las causas de la declinación de anfibios a nivel global (Berger *et al.* 1998, Longcore *et al.* 1999, Daszak *et al.* 2003, 2004, Garner *et al.* 2006). En Argentina, desde el año 2002 se han registrado numerosos casos en diversas regiones y en especies de distintos linajes filogenéticos (Herrera *et al.* 2005, Arellano *et al.* 2006, 2009a, Barrionuevo y Mangione 2006, Fox *et al.* 2006, Ghirardi *et al.* 2009a, Agostini *et al.* 2010, Delgado *et al.* 2010, Gutiérrez *et al.* 2010, Longo *et al.* 2010). Algunas de las regiones donde se ha encontrado al quitridio representan puntos de elevada biodiversidad y prioridad de conservación [*e.g.* Selva Misionera (Mittermeier *et al.* 1998, Brooks *et al.* 2006)], o se caracterizan por albergar especies endémicas o microendémicas [*e.g.* Pampa de Achala (Cei 1972; di Tada 1980; Valetti *et al.* 2009) y región norte de Patagonia (Úbeda *et al.* 2008)]. Por otro lado, varias de las especies infectadas se encuentran categorizadas dentro de algún grado de riesgo de extinción por organismos nacionales e internacionales (*e.g.* Administración de Parques Nacionales 1993, UICN 2011).

En base a lo anteriormente expuesto, en este capítulo se plantean los siguientes objetivos:

- Evaluar la presencia de *Bd* en especies de anuros nativas de Argentina.
- Analizar el efecto de la infección en las diversas especies y regiones.
- Discutir el papel de las áreas protegidas en relación a la enfermedad.

METODOLOGIA

Selección de ejemplares y toma de muestras

Para el análisis de la presencia *Bd* sobre las especies de anfibios nativas de Argentina, se tuvieron en cuenta características de los ambientes o sus áreas de distribución, teniendo en cuenta una serie de criterios que se cree tienen relación con este hongo quitridial:

- a- registros previos de *Bd*;
- b- presencia de especies susceptibles a infectarse con *Bd* según características de su biología (*sensu* Williams y Hero 1998, Lips *et al.* 2003, Burrowes *et al.* 2004);
- c- presencia de poblaciones asilvestradas del anfibio introducido *Lithobates catesbeianus* que puedan actuar como reservorios y/o vectores de *Bd* a especies de anuros autóctonas (Berger *et al.* 1998, Daszak *et al.* 1999, Mazzoni *et al.* 2003, Hanselmann *et al.* 2004, Kraus 2009);
- d- presencia de especies de interés en cuanto a su estatus de conservación (*e.g.* categorizadas en algún grado de riesgo por organismos nacionales o internacionales, con un área de distribución poco extensa);
- e- importancia de los sitios por su elevada diversidad de anfibios o por constituir corredores biológicos de interés.

De acuerdo los criterios anteriormente enumerados se seleccionaron una serie de regiones de muestreo:

Litoral fluvial: se realizaron relevamientos en diferentes puntos sobre el valle aluvial de los ríos Paraná (en las Provincias de Misiones, Corrientes y Santa Fe) y Uruguay (en la Provincia de Misiones). Esta región se seleccionó por ser un área de gran diversidad, con especies de anfibios pertenecientes a diferentes linajes biogeográficamente tropicales que alcanzan en esta área la mayor latitud de su distribución (Arzamendia y Giraudó, 2009). Además, en esta región se han documentado poblaciones de *L. catesbeianus* viviendo en silvestría (Pereyra *et al.* 2006) y se han registrado casos positivos de *Bd* (Arellano *et al.* 2009a).

Noroeste: se realizaron monitoreos y se tomaron muestras para realizar análisis moleculares en ejemplares de anfibios de las Provincias de Jujuy, Salta y Catamarca. En esta región habitan especies de interés por estar amenazadas, poseer distribución restringida y por ser especies susceptibles a infectarse con *Bd* según características de su biología (*e.g.* Lips *et al.* 2003, Williams y Hero 1998). Además, en esta región existen antecedentes de infección por el hongo quitridial en ranas del género *Telmatobius* (Barrionuevo y Mangione 2006).

Cuyo: en esta región se muestrearon las Provincias de La Rioja, San Juan y Mendoza. Esta región posee especies endémicas y de importancia para la conservación como *Alsodes pehuenche*; y en dos de las provincias se reconoce una invasión importante de la especie introducida *L. catesbeianus* (Sanabria *et al.* 2005, 2011a, 2011b), con registros positivos de *Bd* en sus poblaciones asilvestradas (Ghirardi *et al.* 2009b), por lo que resulta una región de especial interés.

Patagonia: en esta región el muestreo fue organizado con el fin de monitorear la mayoría de los ambientes representativos de esa zona y las especies con diferente rango de distribución en un gradiente este-oeste. Entonces, se evaluó la presencia de *Bd* en anuros de las Provincias de Neuquén, Río Negro, Chubut y Santa Cruz. Los muestreos se llevaron a cabo en arroyos y lagunas de altitud, en mallines -lagunas someras típicas de Patagonia-, en los bosques de transición en la zona este de los Andes y lagunas endorreicas del desierto de estepa.

Todas las muestras analizadas provienen de ejemplares colectados en campañas propias, campañas realizadas por colaboradores (Noroeste: Sebastián Barrionuevo; Cuyo: Eduardo Sanabria, Lorena Quiroga, Valeria Corbalán; Patagonia: Félix Cruz, Cristian Abdala, Romina Semhan) y de diversas colecciones Herpetológicas de Instituciones Argentinas y particulares (para mayores detalles ver Anexo: Tabla 1). Cabe destacar que la mayoría de los especímenes fueron colectados por un gran número de personas para diferentes propósitos y finalidades ajenas a un muestreo periódico de enfermedades emergentes, por lo tanto, se puede observar una variedad tanto en el número de especies como de ejemplares pertenecientes a las diferentes regiones estudiadas.

Para la colecta de la muestra de ADN en los muestreos de campo, todos los individuos fueron cuidadosamente hisopados varias veces en la superficie ventral, en los muslos y en las membranas interdigitales de las patas traseras siguiendo las técnicas de Livo (2004) y Hyatt *et al.* (2007). Cada hisopo fue secado a la sombra (ventilado) y colocado en un recipiente eppendorf de 1,5ml con la cabeza que contenía la muestra hacia el fondo del tubo. Los mismos fueron conservados en freezer hasta su posterior análisis. Solo los ejemplares encontrados muertos o moribundos fueron colectados, mientras que el resto de los individuos fueron hisopados y liberados en los mismos sitios de muestreo. Además, en todos los casos en que fue posible (muestreos programados a tal fin), a los individuos adultos se les registró el largo hocico-cloaca (LHC) y a las larvas la longitud total del cuerpo (LT). Además, se registraron una serie de variables ambientales como, temperatura ambiente ($T^{\circ}\text{amb}$), temperatura del agua ($T^{\circ}\text{agua}$), pH y oxígeno disuelto. Siempre que fue posible, se determinó en el campo el estadio de los ejemplares hisopados (A: adulto, J: juvenil, L: larva); mientras que para los ejemplares provenientes de colecciones particulares o institucionales se registraron los datos que figuraban en los libros de las colecciones.

Durante los muestreos se siguieron los protocolos sugeridos por los Códigos de Práctica de Campo de la DAPTF (DAPTF 1998) y aquellos detallados en Livo (2004) para evitar posible contaminación cruzada de patógenos entre cuerpos de agua y ejemplares.

Análisis de las muestras

En las larvas se realizaron observaciones en lupa de la región bucal para evaluar su coloración. Las observaciones se realizaron principalmente en larvas comprendidas entre los estadios 30 y 41 de Gosner (1960). Este procedimiento fue seguido debido a que la despigmentación causada por la quitridiomycosis en general no es evidente hasta el estadio 30 (Knaap y Morgan 2006) y las estructuras bucales de las larvas comienzan a modificarse y a perderse a partir del estadio 41 como consecuencia de los cambios que se producen durante la metamorfosis (Gosner 1960). En algunas larvas se realizaron cortes histológicos para la detección de *Bd*. En estos casos se utilizó una sección de la región bucal que incluyó la zona queratinizada de los 'dientes' y el pico córneo.

En los ejemplares post metamórficos estudiados (juveniles y adultos) provenientes de las colecciones herpetológicas se emplearon cortes histológicos como técnica de detección de *Bd*. Se seleccionaron parches de piel de los muslos y zona inguinal como muestra debido a que el hongo no está distribuido equitativamente en la superficie del cuerpo, sino que se encuentra con más frecuencia en el estrato córneo presente en los dedos y la porción ventral del cuerpo (particularmente en los muslos y la zona inguinal), siendo menos frecuente en la zona dorsal (Berger *et al.* 1998, Pessier *et al.* 1999). En este sentido, para cada individuo se cortaron 2 parches de piel (5x5mm a 5x10mm) dependiendo del tamaño de los ejemplares. Los parches fueron extraídos de la región ventral de las ancas y de la región de la pelvis y conservados en etanol 70% para ser procesados siguiendo el protocolo histológico clásico para Hematoxilina y Eosina (H&E). Para ello, las muestras fueron fijadas, deshidratadas en graduaciones crecientes de alcohol e incluidas en parafina. Posteriormente, se procedió a la formación del taco y se cortó en secciones de 5µm con un micrótopo de rotación Reitcher. Una vez montados sobre los portaobjetos y rehidratados, los cortes fueron teñidos con H&E y deshidratados nuevamente para a su montaje definitivo y su posterior observación en el microscopio (Humason *et al.* 1997).

Empleando un microscopio estereoscópico (Leika DM 2500) y siguiendo el procedimiento propuesto por Berger *et al.* (1999) y Pessier *et al.* (1999) se buscó evidencia de *Bd* en el material histológico a través de la observación de los esporangios en sus distintos grados de desarrollo en el epitelio córneo y granuloso del hospedante.

Para el análisis molecular las muestras fueron enviadas al laboratorio del Dr. Michael G. Levy, en la Escuela Universitaria de Medicina Veterinaria de la Universidad Estatal de Carolina

del Norte (EEUU). Las muestras fueron procesadas mediante la técnica de PCR en tiempo real (Taqman PCR) (Applied Biosystems, Foster City, CA) de acuerdo al método de Boyle *et al.* (2004). Se utilizaron controles negativos y positivos de *Bd.* Los últimos consistieron en hisopos inoculados con un número conocido de zoosporas y fueron corridos junto a las muestras de campo. El límite de detección utilizado para el análisis fue de 0,5 genoma equivalente de *Bd.*

RESULTADOS

Se analizaron un total de 871 ejemplares pertenecientes a 43 especies (también se distinguieron ejemplares de dos subespecies de *Rhinella spinulosa* y se analizaron ejemplares pertenecientes a géneros que no pudieron ser determinados a nivel específico), lo que representa más de un cuarto de la diversidad de anfibios del país. Los ejemplares analizados provinieron de trece provincias de Argentina y de cuatro regiones geográficas: Litoral fluvial, Noroeste, Cuyo y Patagonia (ver Metodología en este Capítulo y Anexo: Figuras 1 a 10 para mayor detalle de los sitios de muestreo). Se registró la presencia de *Bd* en 57 individuos pertenecientes a 12 especies (que incluyen las dos subespecies de *R. spinulosa*), distribuidos en nueve provincias y en las cuatro regiones estudiadas (Tabla 2, Figura 1).

Tabla 2. Ejemplares de anfibios analizados por región para presencia de *Bd* y técnica utilizada. N: número total de individuos analizados, N *Bd*: número de individuos con registro positivo de *Bd*. L: larvas. J: juveniles. A: adultos. nd: no se cuenta con datos precisos. Se presentan resaltadas en negrita las especies que resultaron positivas para *Bd*. Para mayores detalles e información ver Anexo: Tabla 1.

Provincia	Especie	Técnica	N	N <i>Bd</i>	N Estadio		
					L	J	A
Litoral fluvial							
Corrientes	<i>Leptodactylus bufonius</i>	PCR	1	-	-	1	-
	<i>Physalaemus santafecinus</i>		16	-	6	10	-
	<i>Rhinella schneideri</i>		6	-	-	6	-
	<i>Scinax nasicus</i>		9	-	-	9	-
Misiones	<i>Dendropsophus minutus</i>	PCR	6	-	-	-	6
	<i>Hypsiboas albopunctatus</i>		3	-	-	-	3
	<i>Hypsiboas caingua</i>		5	-	-	-	5
	<i>Hypsiboas</i> sp.		3	-	-	3	-
	<i>Leptodactylus fuscus</i>		13	-	-	13	-
	<i>Leptodactylus mystacinus</i>		7	-	-	3	4
	<i>Leptodactylus latrans</i>		1	-	-	1	-
	<i>Scinax aff. pinima</i>		5	-	-	5	-
	<i>Scinax fuscovaris</i>		7	-	-	5	2
	<i>Scinax nasicus</i>		1	-	-	1	-
	<i>Scinax squalirostris</i>		3	-	-	-	3
	<i>Phyllomedusa sauvagii</i>		2	-	-	-	2
	<i>Physalaemus</i> sp.		1	1	-	-	1
	<i>Pseudopaludicola falcipes</i>		2	-	-	-	2
<i>Rhinella</i> sp.		2	-	-	-	2	
Santa Fe	<i>Pseudis paradoxa</i>	Lupa	5	-	5	-	-
	<i>Leptodactylus latrans</i>	Hist	4	-	-	1	3
	<i>Ceratophrys candwelli</i>	PCR	3	-	-	-	3

Provincia	Especie	Técnica	N	N Bd	N Estadio		
					L	J	A
	<i>Dendropsophus nanus</i>		15	-	-	-	15
	<i>Hypsiboas pulchellus</i>		8	2	-	-	8
	<i>Hypsiboas</i> sp.		18	-	-	18	-
	<i>Leptodactylus chaquensis</i>		18	1	-	3	15
	<i>Leptodactylus latrans</i>		19	-	10	7	5
	<i>Leptodactylus</i> sp.		6	-	-	6	-
	<i>Physalaemus</i> sp.		2	-	-	2	-
	<i>Pseudis limellum</i>		10	-	-	-	10
	<i>Pseudis paradoxa</i>		21	-	-	2	19
	<i>Pseudopaludicola falcipes</i>		9	-	-	-	9
	<i>Rhinella arenarum</i>		3	-	-	3	-
	<i>Rhinella fernandezae</i>		16	-	-	2	14
	<i>Rhinella schneideri</i>		4	-	-	3	1
	<i>Rhinella</i> sp. (major?)		9	-	-	nd	nd
	<i>Scinax nasicus</i>		2	-	-	-	2
Noroeste							
Jujuy	<i>Rhinella spinulosa spinulosa</i>	PCR	6	2	-	-	6
	<i>Telmatobius marmoratus</i>		18	7	-	3 nd	3 nd
	<i>Telmatobius rubigo</i>		25	-	-	-	25
	<i>Telmatobius</i> sp.		3	-	-	3	-
	<i>Telmatobius atacamensis</i>		32	-	-	nd	nd
Salta	<i>Hypsiboas andinus</i>	PCR	3	-	-	3	-
	<i>Rhinella spinulosa spinulosa</i>		3	-	-	-	3
	<i>Telmatobius marmoratus</i>		12	-	-	1	11
Catamarca	<i>Rhinella spinulosa spinulosa</i>	PCR	12	-	-	6 nd	1 nd
	<i>Telmatobius hautali</i>		24	-	-	nd	nd
Cuyo							
La Rioja	<i>Hypsiboas riojanus</i>	Lupa	9	-	9	-	-
	<i>Odontophrynus</i> sp.		13	-	13	-	-
	<i>Pleurodema guayape</i>		10	-	10	-	-
	<i>Rhinella spinulosa spinulosa</i>		19	-	19	-	-
	<i>Telmatobius</i> sp.		13	-	13	-	-
	<i>Hypsiboas riojanus</i>	Hist	1	-	1	-	-
	<i>Odontophrynus</i> sp.		1	-	1	-	-
	<i>Rhinella arenarum</i>		1	-	1	-	-
	<i>Rhinella spinulosa spinulosa</i>		1	-	1	-	-
	<i>Hypsiboas riojanus</i>	PCR	40	-	-	nd	nd
	<i>Odontophrynus barrioi</i>		3	-	-	-	3
	<i>Rhinella spinulosa spinulosa</i>		51	5	-	nd	nd
	<i>Telmatobius</i> sp.		13	-	-	nd	nd
San Juan	<i>Odontophrynus occidentalis</i>	Lupa	6	-	6	-	-

Provincia	Especie	Técnica	N	N Bd	N Estadio		
					L	J	A
	<i>Rhinella arenarum</i>		10	-	10	-	-
	<i>Leptodactylus latrans</i>	Hist	1	1	-	1	-
	<i>Pleurodema tucumana</i>		4	-	-	-	4
	<i>Pleurodema nebulosa</i>		4	-	-	-	4
	<i>Rhinella arenarum</i>		1	-	-	-	1
	<i>Rhinella spinulosa papillosa</i>		1	-	-	-	1
	<i>Leptodactylus bufonius</i>	PCR	1	-	-	-	1
	<i>Leptodactylus latrans</i>		9	-	-	3	6
	<i>Odontoprhnus occidentalis</i>		18	1	11	3	4
	<i>Rhinella arenarum</i>		56	-	-	21	35
	<i>Rhinella spinulosa papillosa</i>		11	1	-	4	7
	<i>Pleurodema</i> sp.		1	-	1	-	-
	<i>Pleurodema tucumana</i>		37	-	3	-	34
Mendoza	<i>Alsodes pehuenche</i>	PCR	23	2	10	2	11
Patagonia							
Neuquén	<i>Atelognathus patagonicus</i>	Hist	13	1*	-	10	3
	<i>Atelognathus praebasalticus</i>		2	-	-	2	-
	<i>Atelognathus patagonicus</i>	PCR	48	31	2	43	3
	<i>Pleurodema bufoninum</i>		1	-	-	1	-
Río Negro	<i>Pleurodema bufoninum</i>	Lupa	13	-	13	-	-
	<i>Pleurodema thaul</i>		3	-	3	-	-
	<i>Rhinella spinulosa papillosa</i>		3	-	3	-	-
	<i>Alsodes gargola</i>	PCR	2	-	-	-	2
	<i>Pleurodema bufoninum</i>		6	-	6	-	-
	<i>Pleurodema thaul</i>		10	2	8	2	-
	<i>Rhinella spinulosa papillosa</i>		4	-	4	-	-
Chubut	<i>Pleurodema bufoninum</i>	PCR	2	1	-	-	2
Santa Cruz	<i>Pleurodema bufoninum</i>	PCR	3	-	3	-	-
Total			871	57	172	203	300

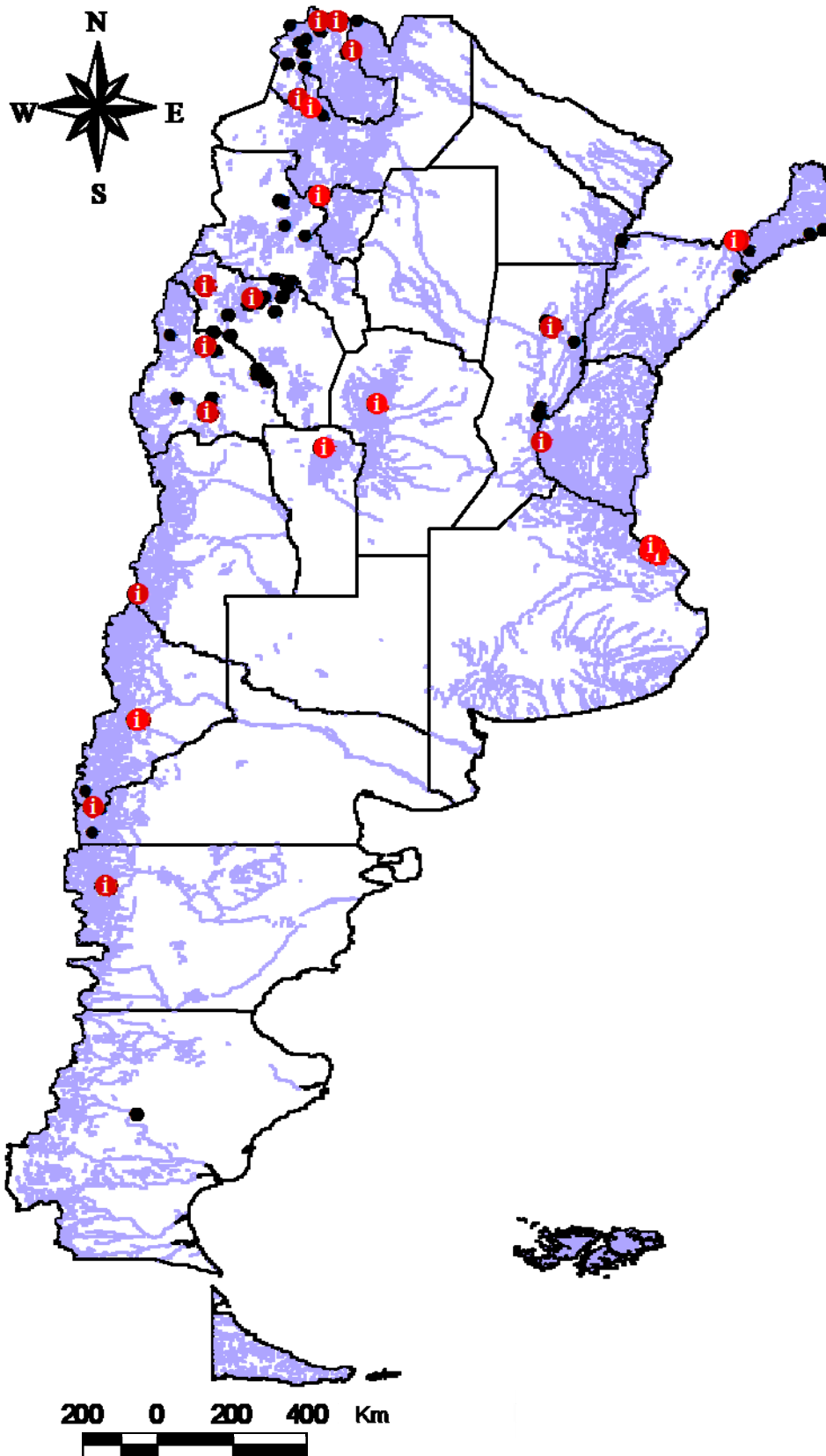


Figura 1. Sitios donde se realizaron los muestreos. Se detallan los registros negativos (●) y positivos (①) obtenidos para *Batrachochytrium dendrobatidis* en especies nativas.

Región Litoral fluvial

En la región del Litoral fluvial (Anexo: Figura 1 a 3) se reportó la presencia de *Bd* en dos de las tres provincias muestreadas (Figura 2, Tabla 2).

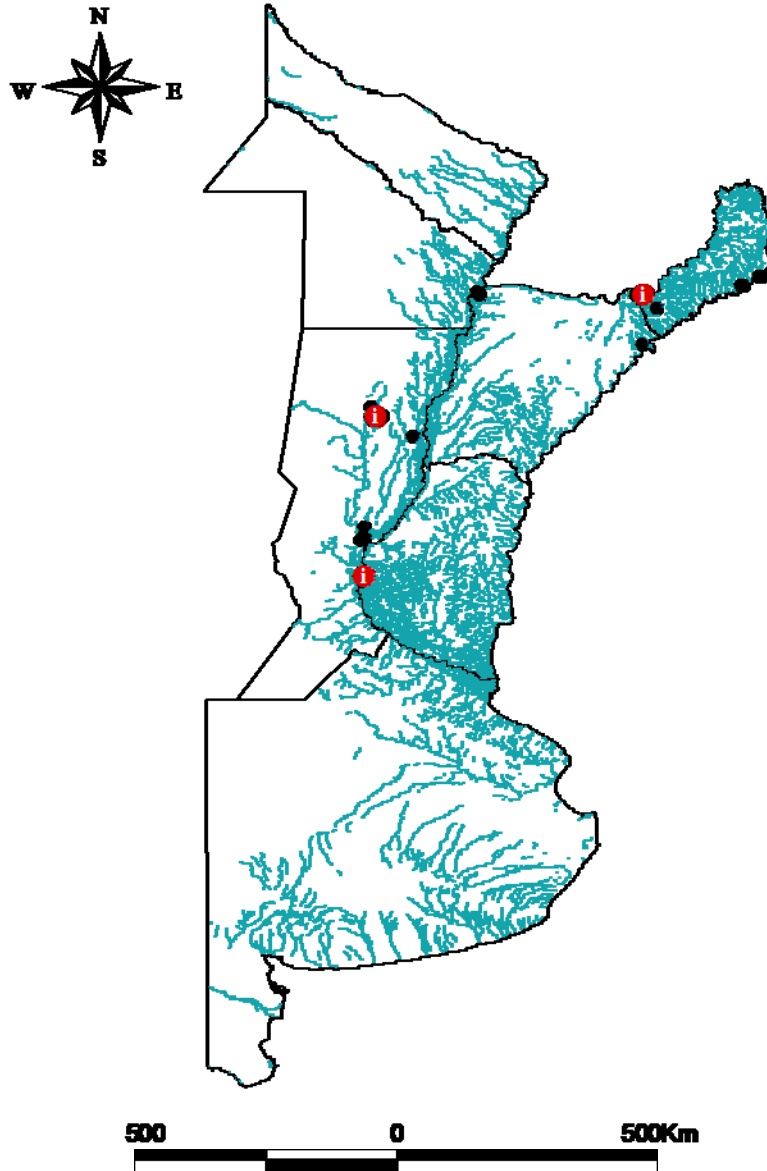


Figura 2. Detalle de los sitios de muestreo en la región del Litoral fluvial. (●): sitios donde las muestras resultaron negativas para la presencia de *Bd*. (1): sitios donde al menos una muestra resultó positiva para la presencia de *Bd*.

En la Provincia de Corrientes se analizaron 32 individuos y ninguno resultó positivo para *Bd* (Tabla 2). En la Provincia de Misiones, un ejemplar adulto de *Physalaemus sp.* colectado en noviembre del año 2009 en el Campus Universitario de la UNAM, Posadas (27° 26' 03,8'' S, 55° 53' 11,3'' O; 122msnm) resultó positivo para *Bd*. En la Provincia de Santa Fe, los registros de *Bd* fueron, por un lado, en dos individuos adultos de *H. pulchellus* (Figura 3)

colectados el 31 de agosto de 2009 en la Reserva Provincial El Rico ($32^{\circ} 16' 34,86''$ S, $60^{\circ} 41' 15,35''$ O; 9msnm) (actualmente Parque Nacional Islas de Santa Fe). Ninguno de los dos ejemplares presentaba signos externos de la infección. El cuerpo de agua del sitio presentó un pH=8,2 y una temperatura de $20,2^{\circ}\text{C}$ al momento de la captura de los ejemplares. Por otro lado, se registró la presencia de *Bd* en un ejemplar adulto de *L. chaquensis* proveniente de un estero cercano a la localidad de La Gallareta ($29^{\circ} 31' 36,3''$ S, $60^{\circ} 27' 53,1''$ O; 57msnm), sitio en el que la temperatura del agua fue de $36,5^{\circ}\text{C}$ al momento de la toma de muestras.



Figura 3. Ejemplar de *Hypsiboas pulchellus* positivo para *Bd* hisopado en la ex Reserva Provincial El Rico (Provincia de Santa Fe).

Región Noroeste

En la región del Noroeste (Anexo: Figura 4) se registró presencia de *Bd* en una de las tres provincias muestreadas (Figura 4, Tabla 2).

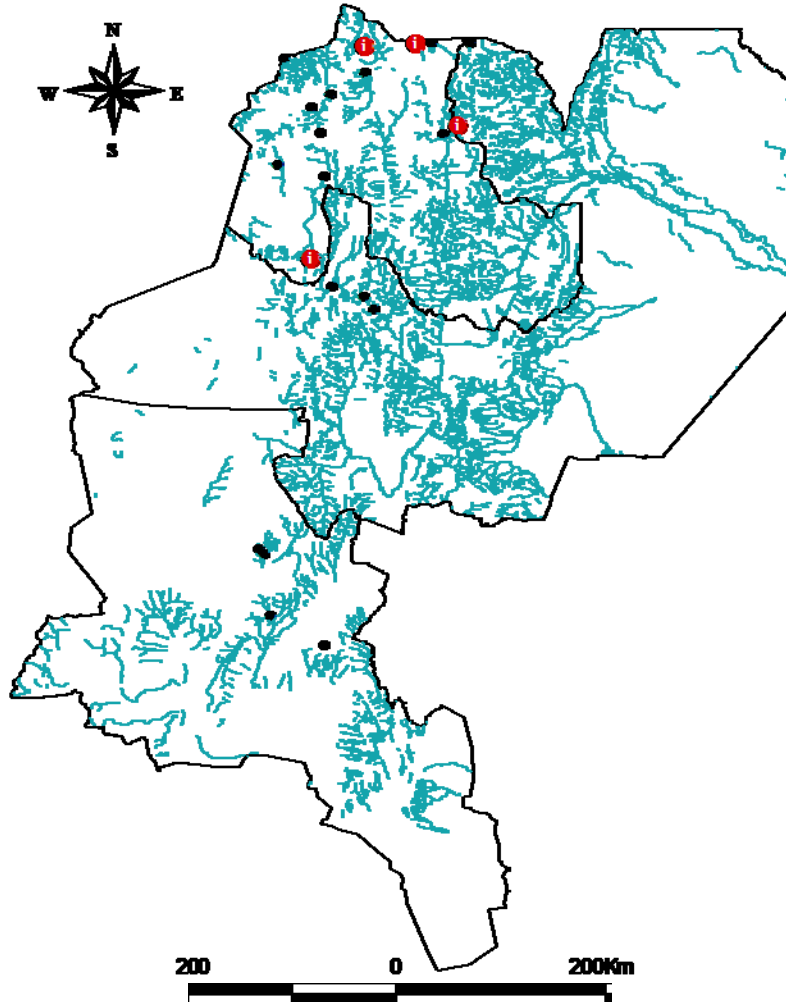


Figura 4. Detalle de los sitios de muestreo en la región del Noroeste argentino. (●): sitios donde las muestras resultaron negativas para la presencia de *Bd*. (1): sitios donde al menos una muestra resultó positiva para la presencia de *Bd*.

Dos ejemplares adultos de *R. spinulosa spinulosa* y siete de *T. marmoratus* (adultos y juveniles) (Sebastián Barrionuevo) resultaron portadores del hongo quitridial en la Provincia de Jujuy (Tabla 2). Uno de los individuos de *R. spinulosa spinulosa* fue colectado a fines de octubre de 2009 en el camino Iruya-Iturbe, casi al límite con Salta ($22^{\circ} 16' 58,12''$ S, $66^{\circ} 23' 27,89''$ O; 3312msnm) y el otro ejemplar en un arroyo al sur de Puesto Sey ($23^{\circ} 16' 58,2''$ S, $66^{\circ} 23' 27,89''$ O; 3681msnm). En la misma provincia, cinco de los ejemplares de *T. marmoratus* positivos para *Bd* fueron hisopados en el arroyo Toro Ara, próximo a La Quiaca ($22^{\circ} 07' 45''$ S, $65^{\circ} 27' 47,2''$ O; 3476msnm) y dos fueron hisopados en Cuenca de Pozuelos, entre Cuesta de Toquero y Cienaguillas ($\approx 22^{\circ} 07'$ S, $65^{\circ} 27'$ O; ≈ 3400 msnm).

Región de Cuyo

En la región de Cuyo (Anexo: Figura 5 a 7) se reportó la presencia de *Bd* en las tres provincias muestreadas (Figura 5, Tabla 2).

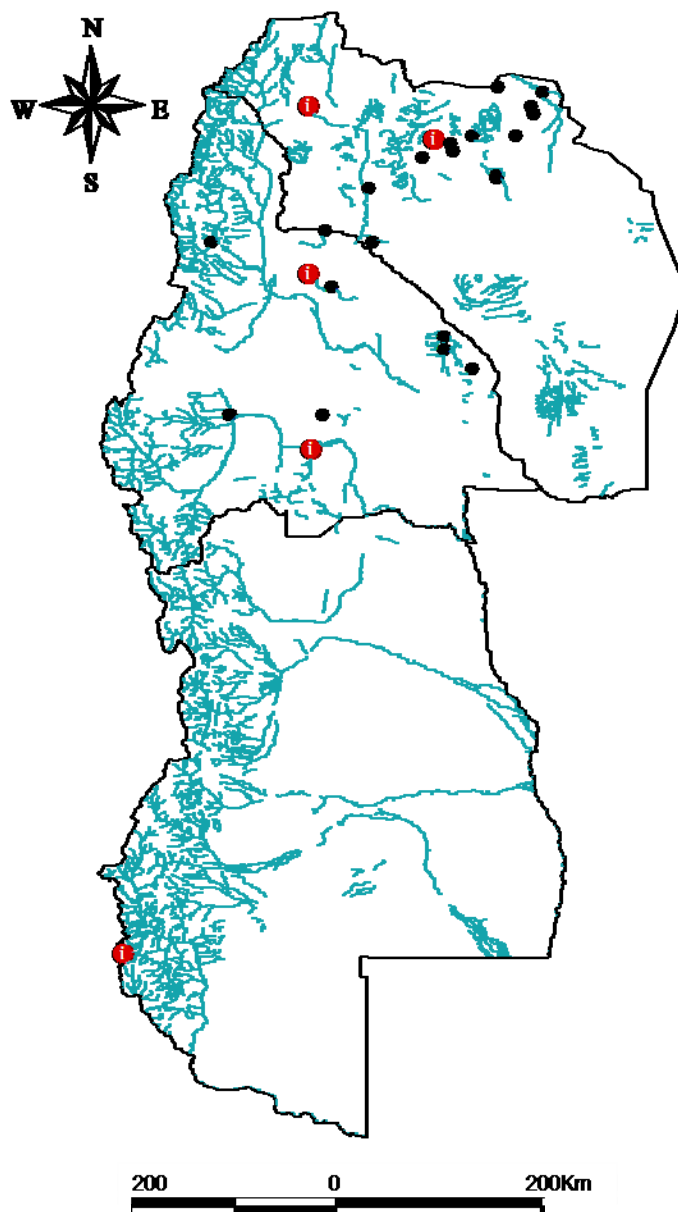


Figura 5. Detalle de los sitios de muestreo en la región de Cuyo. (●): sitios donde las muestras resultaron negativas para la presencia de *Bd*. (●): sitios donde al menos una muestra resultó positiva para la presencia de *Bd*.

En La Rioja, cinco ejemplares de *R. spinulosa spinulosa* resultaron portadores del hongo. Cuatro de los ejemplares fueron colectados el 21 de noviembre de 2009 sobre los canales del río El Marco, próximo a la localidad de Los Corrales (28° 50' 12,85'' S, 67° 39'

4,84'' O; 2116msnm) y el quinto ejemplar fue hisopado el 29 del mismo mes en el arroyo El Peñón, camino a Laguna Brava (28° 32' 20,09'' S, 68° 45' 8,58'' O; 3036msnm).

En la Provincia de San Juan se registró la presencia del hongo en tres especies de anuros: un ejemplar juvenil de *L. latrans* (Eduardo Sanabria y Lorena Quiroga) colectado en febrero del año 2001 en el Dique Lateral (Departamento Zonda) (31° 33' 0,01'' S, 68° 44' 0,01'' O; 650msnm), depositado en la colección del ECRA (Figura 6); un ejemplar adulto de *O. occidentalis* y un ejemplar adulto de *R. spinulosa papillosa*, hisopados el 5 de febrero de 2010 en la localidad de Huerta de Huachi (30° 00' 42,1'' S, 68° 45' 11,6'' O; 1497msnm). En ese sitio la temperatura del agua varió entre 17°C y 23,5°C en los cuerpos de agua donde se capturaron los ejemplares hisopados.

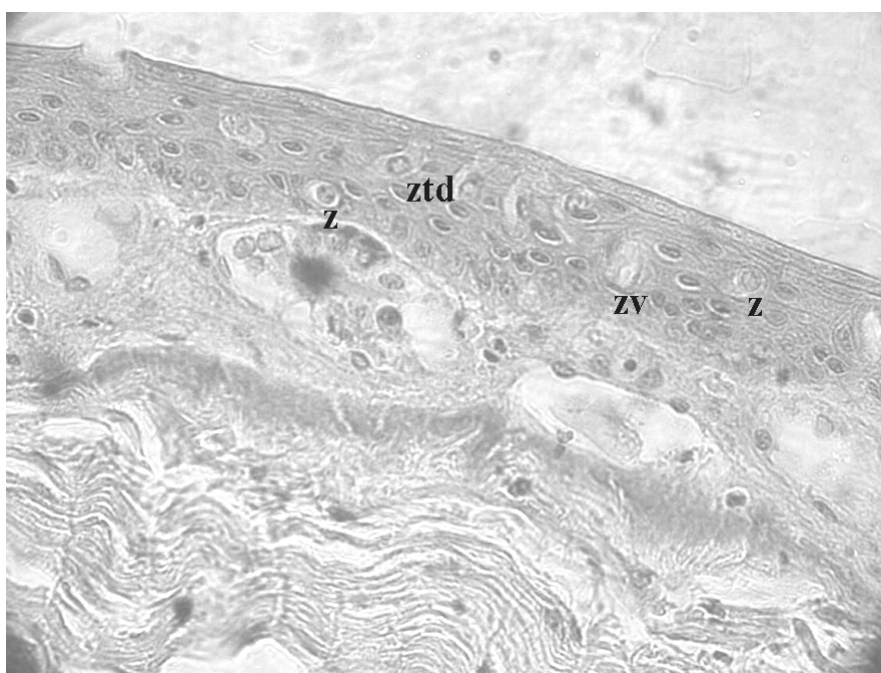


Figura 6. Corte histológico de *L. latrans* de la Provincia de San Juan. Se pueden observar esporangios en diferente nivel de maduración. z: zoosporangio maduro, ztd: zoosporangio formando tubo de descarga orientada hacia la superficie de la epidermis, zv: zoosporangio vacío.

En la Provincia de Mendoza se detectó *Bd* en dos ejemplares (una larva y un juvenil) de *A. pehuenche* (Valeria Corbalán). El juvenil fue hisopado en diciembre de 2008 y la larva en abril de 2010 en el Paso Internacional Pehuenche (35° 58' 35,4'' S, 70° 22' 53,88'' O; 2569msnm). Cabe destacar que el juvenil capturado en Diciembre de 2008 fue recapturado como adulto en Abril de 2010. En la primer captura el análisis dio positivo para *Bd*, mientras que el análisis del hisopo de la recaptura (16 meses después) fue negativo para *Bd*. La rana presentaba una mancha oscura en el abdomen (Figura 7), pero no tenía síntomas aparentes de la enfermedad en el comportamiento. Si bien tras la recaptura fue mantenido en cautiverio algunos meses, terminó falleciendo sin causa evidente (V. Corbalán com. pers.).



Figura 7. Detalle de la mancha oscura ventral en el ejemplar de *A. pehuente* con registro positivo de *Bd* en la primer captura (2008) y negativo para el hongo luego de su recaptura, 16 meses más tarde (2010).

Región Patagónica

En la región Patagónica (Anexo: Figura 8 a 10) se reportó la presencia de *Bd* en anuros de tres de las cuatro provincias muestreadas (Figura 8, Tabla 2).

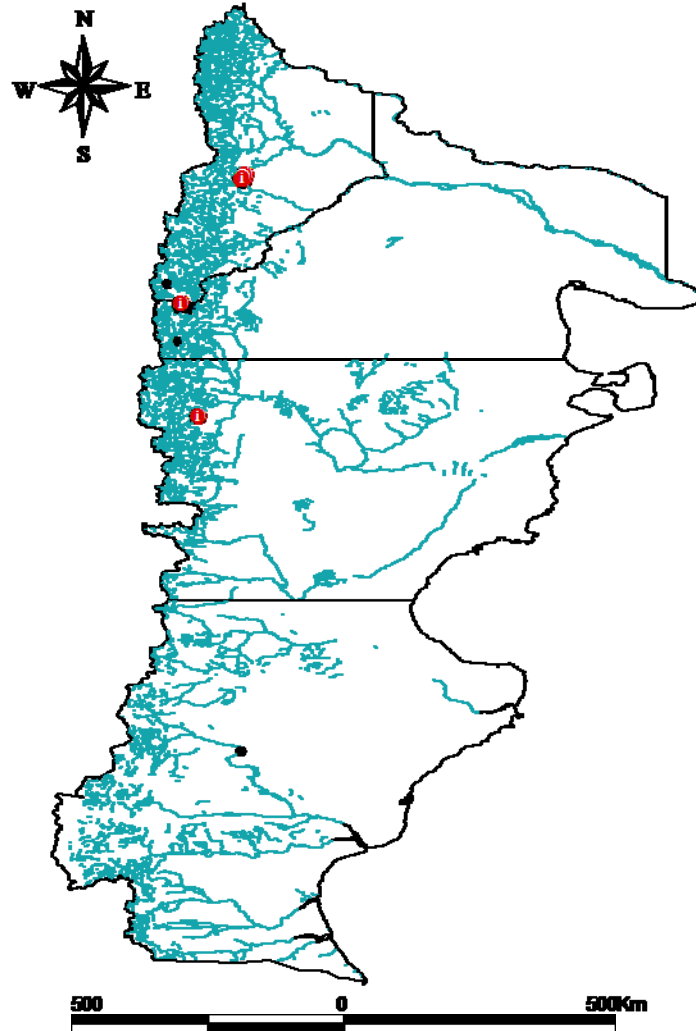


Figura 8. Detalle de los sitios de muestreo en la región Patagónica argentina.
 (●): sitios donde las muestras resultaron negativas para la presencia de *Bd*.
 (1): sitios donde al menos una muestra resultó positiva para la presencia de *Bd*.

En Neuquén se registraron 31 de los 48 ejemplares (adultos y juveniles) de *A. patagonicus* analizados por técnicas moleculares con presencia del hongo quitridial en el PN Laguna Blanca (39° S, 70° O; 1276msnm) (Tabla 2) En los cortes histológicos que se realizaron en los ejemplares solo 1 resultó contener signos de *Bd* mientras que el resto presentaba aspecto saludable (Figura 9). En las lagunas endorreicas del Parque Nacional Laguna Blanca se encontraron individuos muertos y moribundos de la especie. En la laguna Hueso se encontraron algunos individuos muertos y otros moribundos que mostraban signos etológicos de quitridiomycosis como aletargamiento, ausencia de brillo en la piel y delgadez extrema (Figura

10a). También colectamos ejemplares muertos de esta misma especie en las lagunas Verde y Del Hoyo (Figura 10b y 10c). Todos los individuos muertos y moribundos dieron positivo para *Bd*. Las lagunas presentaron un pH promedio de 8,5 ($5,3 < \text{pH} < 10,4$) y una temperatura del agua de 15,9°C promedio ($11,8 < T^{\circ}\text{agua} < 20,1$).



Figura 9. Corte histológico de *A. patagonicus* del PNLB. No se observan signos de *Bd*.



Figura 10. Ejemplares de *A. patagonicus* moribundos y muertos encontrados en el PNLB: a, laguna Hueso; b, laguna Verde; c, laguna Del Hoyo.

En la Provincia de Río Negro se encontraron dos ejemplares de *P. thaul* infectados por *Bd*. Ambos ejemplares (una larva y un juvenil) habitan la Laguna Fantasma, un cuerpo de agua permanente de la ciudad de San Carlos de Bariloche ($41^{\circ} 05' 33''$ S, $71^{\circ} 27'$ O; 780msnm). El juvenil fue hisopado en septiembre de 2009 y la larva en octubre de 2010. Más hacia el sur, en la Provincia de Chubut, se registró un ejemplar adulto de *P. bufoninum* positivo para *Bd*. El mismo fue hisopado en diciembre de 2009 en la vera de la Ruta 40 ($42^{\circ} 58' 08''$ S, $71^{\circ} 09' 50,5''$ O). Ninguno de los individuos hisopados en Santa Cruz dio positivo para la presencia del hongo.

Larvas: Ninguno de los positivos para este hongo quitridial en larvas fue determinado en base al análisis de los caracteres externos como la despigmentación de sus estructuras orales [todos los ejemplares observados bajo lupa poseían los queratodontes y el pico córneo coloreados y completos (Figura 11)]. Tampoco se encontraron signos de *Bd* en las larvas analizadas mediante cortes histológicos (Figura 12). Por lo que todos los registros positivos de *Bd* en larvas, sin importar la región, fueron realizados en renacuajos analizados con las técnicas moleculares (Tabla 2).



Figura 11. Detalle de la coloración de las estructuras bucales de *H. andinus* colectada en la Provincia de La Rioja. Gentileza: Sebastián Barrionuevo.

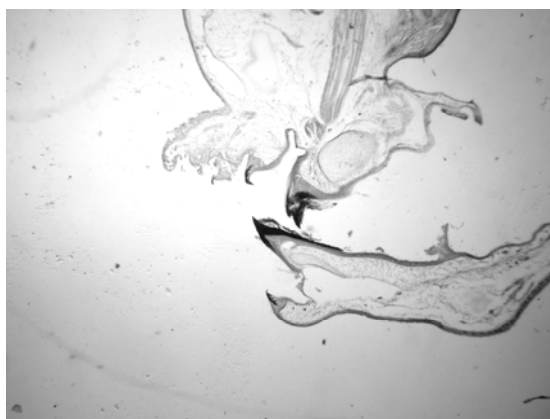


Figura 12. Corte longitudinal del pico córneo de *H. riojanus* colectada en la Provincia de La Rioja.

DISCUSIÓN

***Batrachochytrium dendrobatidis* en especies de anuros nativas de Argentina**

En la región del Litoral fluvial se registró *Bd* en dos ejemplares de *H. pulchellus*. Esta especie tiene una amplia distribución que abarca el Litoral fluvial argentino, todo Uruguay y parte sur de Brasil y Paraguay (Kwet *et al.* 2004). Esta especie posee hábitos y características que favorecen la infección por el quitridio (Lips *et al.* 2003, Williams y Hero 1998) ya que se encuentra activa durante los meses fríos del año (López *et al.* 2011), sus larvas son de desarrollo lento (entre 2 y 6 meses, dependiendo del período de puesta) y pueden encontrarse en los cuerpos de agua durante un amplio período entre los meses de otoño e invierno (Lajmanovich 2000, Scarabotti 2005).

La otra especie con registro positivo para *Bd* en esta región, *L. chaquensis*, se encuentra íntimamente emparentada con *L. latrans* (Ceí 1950); esta última especie presentó registros positivos para *Bd* en diversos tipos de ambientes de varias provincias argentinas (Herrera *et al.* 2005, Arellano *et al.* 2006, Ghirardi *et al.* 2009a, Agostini *et al.* 2010, Tabla 1). Estas dos especies de leptodactílicos también poseen una amplia distribución, son abundantes en muchos ambientes y sus larvas son gregarias, forman densas agrupaciones de renacuajos en las lagunas que habitan (Vaz-Ferreira y Gehrau 1975), hábito que favorecería la posibilidad de contagios durante la etapa larval, tanto en individuos de esta especie, como en otras especies con larvas acuáticas con las que comparten los cuerpos y cursos de agua (Rachowicz y Vredenburg 2004).

Hasta el momento no se han registrado mortalidades masivas de estas especies, y la población donde se obtuvo el primer registro de *Bd* en *L. latrans* (Herrera *et al.* 2005) fue monitoreada posteriormente no obteniendo evidencia de una declinación poblacional debido a la presencia del hongo. Sin embargo, según Beldomenico (2006) cuando se trabaja con animales silvestres se debe tener en cuenta que identificar animales enfermos o cadáveres puede resultar muy difícil. Esto se sustenta con un trabajo de Stutzenbacher *et al.* (1986) en el que se colocaron cadáveres de patos simulando mortandades por intoxicaciones por plomo y cólera aviar y solo se encontraron 6% de los cuerpos luego de una búsqueda intensiva. Al mismo tiempo, hay que considerar que el individuo enfermo es más factible de ser depredado y que los cadáveres tienen una tasa de desaparición (Beldomenico 2006).

Los leptodactílicos mencionados anteriormente (*L. latrans* y *L. chaquensis*) están entre las especies más grandes de Argentina, pero en general no superan los 130gr, por lo que el tiempo de descomposición y/o eliminación del ambiente por carroñeros puede ser muy rápido. En este sentido, es importante tener en cuenta que las características de los hospedadores y del sitio donde viven es importante a tener en cuenta para considerar episodios de mortalidades masivas como dato de presencia de enfermedades en poblaciones silvestres.

Blaustein *et al.* (2005) han sugerido que las especies con larvas acuáticas que forman densas agrupaciones, serían más susceptibles a contagiarse entre sí y contagiar a otras especies y además podrían actuar como reservorios del hongo quitridial, por lo que las poblaciones de *L. latrans* y *L. chaquensis* en las que se ha detectado la presencia de *Bd* podrían estar funcionando como reservorio de esta enfermedad.

En la región del Noroeste encontramos una situación particular para las ranas del grupo *Telmatobius*. Este género reviste especial interés porque muestra características biológicas similares a los anfibios que han declinado a nivel global, como modo de vida acuático, que crecen y se desarrollan en áreas de alta montaña, baja fecundidad y distribución endémica (Laurance 1996, William y Hero 1998, Lips *et al.* 2003). Por ejemplo, en Ecuador se registró *Bd* en *T. niger* en el año 1990 y monitoreos posteriores indicaron la ausencia de esta especie en esas mismas áreas (Merino-Viteri *et al.* 2005). Otro estudio emblemático en Perú reportó *Bd* en *T. marmoratus* a una altitud de más de 5200msnm, ampliando la distribución del hongo en función de la altitud.

En Argentina se había registrado la presencia de *Bd* en ejemplares de *Telmatobius pisanoi* y *T. atacamensis*, colectados en el año 2003 en las Provincias de Tucumán y Salta respectivamente (Barrionuevo y Mangione 2006). La especie *T. atacamensis* es considerada por la UICN como “En Peligro Crítico de Extinción” (UICN 2011).

En un trabajo más reciente, Barrionuevo y Ponssa (2008) analizaron la presencia de *Bd* en larvas de las especies de *Telmatobius* de la Provincia de Tucumán (*T. ceiorum*, *T. laticeps* y *T. pisanoi*), procedentes de colecciones de Museo (colectadas desde el año 1971 hasta 1990), y no encontraron signos de este hongo quitridial. Esto abre nuevos interrogantes acerca del rol de la quitridiomycosis en la declinación del grupo, ya que, según afirman Barrionuevo y Ponssa (2008), el estado de reposo que puede presentar *Bd* (Di Rosa *et al.* 2007) podría mantener al hongo presente en el ambiente por largos períodos de tiempo, pero sin enfermar a los anfibios y sin generar la consecuente declinación en las poblaciones (Barrionuevo y Ponssa 2008). Esta complejidad en el ciclo del hongo y la susceptibilidad del anfibio apoyan la hipótesis que propone que serían varios los factores que pueden co-actuar en la emergencia de esta enfermedad (Blaustein y Kiesecker 2002, Romansic *et al.* 2011).

Dentro de la región de Cuyo, además del ejemplar sanjuanino de *L. latrans*, también se registró *Bd* en *Alsodes pehuenche* (en Provincia de Mendoza), especie categorizada como “Insuficientemente Conocida” por la UICN (Lavilla y Basso 2004). La distribución de *A. pehuenche* está restringida a un área menor a 10km² y se observó que la población habita arroyos cerca del Paso Internacional Pehuenche (Argentina-Chile), sobre la ruta nacional N° 145. Desde el año 2005, esa zona ha sido permanentemente alterada debido al trabajo de construcción de la ruta con el consecuente impacto antrópico en toda esa área. Esta situación ha llevado a proponer a esta especie en un nuevo nivel de categorización, “En Peligro Crítico”

(Corbalán *et al.* 2010). Por otro lado, se observó que un solo espécimen que resultó positivo para *Bd* en 2008, en su recaptura en el 2010 fue negativo para *Bd*, pudiendo sugerir una baja susceptibilidad de la especie a la quitridiomycosis. Esto concuerda con lo observado en *Litoria wilcoxii* (Kriger y Hero 2006) y en *Rana muscosa* y *R. sierrae* (Briggs *et al.* 2005) en las montañas de Sierra Nevada, California. Luego de una epidemia de *Bd*, los anfibios, a pesar de tener una baja importancia en el número de individuos, no desaparecieron de la zona. Estas poblaciones, a pesar de encontrarse infectadas con *Bd*, resisten a la enfermedad; incluso, los adultos que presentan niveles bajos de infección, frecuentemente pierden y vuelven a adquirir la enfermedad (Briggs *et al.* 2005).

De las ocho especies de *Atelognathus* distribuidas en la Patagonia Argentina, la mayoría de ellas están categorizadas con algún grado de peligro, debido principalmente a su distribución geográfica restringida y a las alteraciones de hábitat natural por intervenciones antropogénicas (Cuello *et al.* 2006, IUCN 2006). En muestreos realizados durante el año 2004 en el Parque Nacional Laguna Blanca (Neuquén), Fox *et al.* (2006) encontraron ejemplares de *A. patagonicus* infectados con *Bd* y ranavirus. En este trabajo realizamos nuevos muestreos y expandimos el número de lagunas relevadas, y en nuestros muestreos determinamos nuevos registros de individuos positivos para *Bd*. Además, los nuevos datos indican que la prevalencia de la infección (87,5%) (Ghirardi *et al.* 2009c) es mayor que la previamente reportada por Fox *et al.* (2006) (25% de las lagunas estudiadas). Se debe destacar que *A. patagonicus* es la única especie en la que se observaron un número elevado de ejemplares muertos o moribundos durante los muestreos (incluso, individuos hacinados bajo una roca; Figura 8a). Los modelos propuestos por Briggs *et al.* (2010) sugieren que los brotes de infección se producen más frecuentemente en poblaciones con alta densidad de individuos y bajo condiciones que promueven la reinfección (presencia de agua estancada). Los sitios muestreados para *A. patagonicus* (cuerpos de agua cerrados y de tamaño mediano o reducido), coinciden con los que afirma Briggs *et al.* (2010) como adecuados para desarrollo de *Bd*, por lo que, los requerimientos de hábitat de cada especie podrían condicionar la incidencia de la enfermedad y determinar la diferencia en la proporción de infección (Blaustein y Bancroft 2007, Briggs *et al.* 2010). La vulnerabilidad de *A. patagonicus*, evidenciada por previos impactos severos sufridos por la población principal -actualmente extinta-, que habitaba la laguna Blanca, el mayor cuerpo de agua del Parque Nacional Laguna Blanca, así como la disminución poblacional en el resto de las lagunas que conforman el hábitat típico de esta especie (Úbeda *et al.* 2008), nos lleva a considerarla entre las especies más vulnerables analizadas para la región de Patagonia.

Otra de las especies de anuros en las que se detectó infección por quitridio en Patagonia fue *Pleurodema thaul*, un anuro que habita los mallines y lagunas someras del bosque de transición (Provincia de Río Negro). A pesar de que esta especie tiene una amplia distribución en Sudamérica, la distribución para Argentina es estrecha y acotada al este de los Andes

montañosos (Correa 2007; Ferraro y Casagrande 2009). Los ejemplares de esta especie para los cuales se determinó infección por *Bd* fueron colectados en la laguna Fantasma, en la ciudad de San Carlos de Bariloche, y la prevalencia observada alcanzó un 25% de los especímenes analizados. La importancia de la presencia de esta rana en esta laguna urbana reside en que es la única especie de vertebrado que habita estos humedales (Jara y Perotti 2009), por lo que un programa de monitoreo y conservación de esta especie ha sido sugerido como de alta prioridad a nivel local.

Por otro lado, respecto a especies que habitan lagunas de altura y arroyos subsidiarios en Patagonia, solo se cuenta con el análisis de dos ejemplares adultos de *A. gargola*, que no resultaron positivos para *Bd*. Los individuos fueron encontrados muertos durante las recorridas de los guardaparques del Parque Nacional Nahuel Huapi, por lo que es necesario incrementar los esfuerzos de muestreo para establecer una mejor evaluación de la salud de las poblaciones de esta especie. Se debe tener en cuenta que la distribución de *A. gargola* corresponde a parches pequeños en los andes montañosos del norte patagónico y solo una población está incluida en un área natural protegida (Ceï 1980; Úbeda y Grigera 2007). Además, las características de los ambientes donde se la encuentra (lagos rodeados de nieve, precipitaciones níveas y aguas con bajas temperaturas) resultarían favorables para la presencia y desarrollo del hongo (Puschendorf *et al.* 2006).

Se sabe que la quitridiomycosis lleva a la muerte a individuos de algunas especies (Berger *et al.* 1998, Rachowicz *et al.* 2006, Lips *et al.* 2006), mientras que individuos de otras especies desarrollan solo infecciones menores y sufren pocos o ningún efecto negativo (Daszak *et al.* 2004, Weldon *et al.* 2004). Un amplio número de factores que incluyen la temperatura (Berger *et al.* 2004), las defensas innatas (Harris *et al.* 2009, Woodhams *et al.* 2007, Lam *et al.* 2010), el hábitat (Kriger y Hero 2006, Rowley y Alford 2007), interacciones con otras especies (Buck *et al.* 2011) e historias de vida de los anfibios (Lips *et al.* 2003) pueden contribuir al resultado variable de la enfermedad (Briggs *et al.* 2010). Por ejemplo, se ha observado que es posible un proceso de repoblamiento en aquellas poblaciones diezmadas a causa de la quitridiomycosis (Briggs *et al.* 2010, Zukerman 2010), como los estudios realizados en Norteamérica y Australia (Zukerman 2010).

Por otro lado, con excepción de *A. patagonicus* (donde numerosos ejemplares muertos o moribundos se encontraban infectados), en Argentina no se han registrado grandes mortandades de anfibios que puedan ser directamente vinculadas a un brote de quitridiomycosis. Al respecto, se pueden proponer tres hipótesis respecto a las limitadas observaciones y registros de quitridiomycosis en especies de anfibios nativos de Argentina:

- 1- la población recién se está infectando y es susceptible de sufrir un colapso por la enfermedad en un futuro cercano;

- 2- la población lleva tiempo infectada, ya se ha producido un proceso de declinación (detectado o no por el hombre) y los ejemplares que actualmente la componen poseen una cierta resistencia a la enfermedad;
- 3- la especie siempre fue resistente a la enfermedad y, solo en condiciones de depresión inmunológica causada por otros factores ecológicos (*e.g.* fragmentación de hábitat, contaminación del agua, aumento de radiación UV-B), puede alcanzar una virulencia tal, que provoque una mortandad importante en sus poblaciones.

Debido a que en Argentina aún no existen estudios de seguimiento periódico y sistemático a largo plazo sobre el estado de salud de las poblaciones de anfibios, y particularmente en relación a la infección por *Bd*, resulta difícil contrastar la primera de las hipótesis planteadas. Sólo existe una población de anuros de la especie *L. latrans* que registra un seguimiento desde el año 1998 en la zona del arroyo El Pescado, Provincia de Buenos Aires, (Herrera *et al.* 2005); pero allí los estudios de *Bd* no comenzaron sino hasta 2004. Para la segunda hipótesis tampoco existen datos suficientes que puedan servir de sustento, por el mismo motivo mencionado anteriormente. En este caso, lo que podría sugerirse es que el *Bd* llegó en algún momento en el pasado y la fase inicial de la epidemia o su dinámica no fue observada (Briggs *et al.* 2010). En último lugar, respecto a la hipótesis que sugiere que las especies infectadas siempre fueron resistentes al patógeno y por eso conviven con *Bd* sin una declinación importante, tampoco se dispone en el país de datos abundantes sobre la susceptibilidad de las distintas especies a la infección por *Bd* ni a como otros factores ecológicos actuarían de manera indirecta para favorecer brotes de la enfermedad. Sólo hay un trabajo (Arellano *et al.* 2009b) que estudió la susceptibilidad de seis especies de anuros de la Provincia de Buenos Aires en laboratorio, pero en el mismo no se vinculan factores externos, como los mencionados en la tercer hipótesis, que puedan influir. Adicionalmente, se puede considerar una variante de esta última hipótesis, en la que el patógeno siempre estuvo presente en el ambiente y en equilibrio con las especies de anfibios, pero en donde nuevas cepas del hongo, con una virulencia diferente para los anfibios locales llegan esporádicamente a los cuerpos o cursos de agua traídas directa o indirectamente por actividades antrópicas, lo que provoca la progresión de la enfermedad en los anuros que no han co-evolucionado con esta cepa exótica (esta posibilidad se discute en mayor profundidad en el Capítulo III).

En cualquier caso, los estudios comenzados en este trabajo pueden ser el inicio de un seguimiento a mediano y largo plazo de las poblaciones infectadas, con el fin de aportar nuevos datos que permitan testear las hipótesis antes mencionadas. Además, se podría ampliar el estudio considerando diferentes líneas de investigación, por ejemplo, la evaluación de los péptidos que desarrollan las ranas en su piel o las bacterias que poseen y que les confieren cierta

resistencia a la enfermedad (Rollins-Smith *et al.* 2002, 2005, Lauer *et al.* 2007, Harris *et al.* 2009).

***Batrachochytrium dendrobatidis* en las distintas regiones de Argentina**

Los estudios de sensibilidad de anfibios a *Bd* han sido desarrollados en condiciones experimentales en el laboratorio, y son diferentes de las condiciones naturales a que están sujetas las especies de anuros en los sitios donde habitan (Drew *et al.* 2006). Por lo que, las observaciones que en condiciones de laboratorio representan infecciones subletales, podrían ser potencialmente letales bajo circunstancias naturales (Quimby *et al.* 2005), ya que una variedad de factores, que no están considerados bajo las condiciones experimentales dentro del laboratorio, pueden generar una disminución en la respuesta inmune de los anfibios (por ejemplo: cambios en las características físico/químicas del agua, presión de depredación, escasa oferta de alimentos o alimento de baja calidad, radiación UV-B y otros factores antropogénicos). Además, las características del ambiente pueden cambiar en favor de los requerimientos del parásito, promoviendo brotes de la enfermedad (Blaustein y Kiesecker 2002, Pounds *et al.* 2006). Debido a las singularidades de las especies y de la relación parásito-huesped, no es posible basar decisiones en estudios llevados a cabo en otros países, por mas filogenéticamente relacionadas que estén las especies en cuestión. Por lo tanto, para conocer la naturaleza de una enfermedad en una especie silvestre son indispensables los estudios regionales (Beldomenico *et al.* 2003), no sólo focalizando sobre las especies que se encuentran infectadas con el hongo, sino también, tener en cuenta las características ambientales del sitio que habitan.

Se ha propuesto que los anfibios en mayor situación de riesgo en la República Argentina son los que viven en ambientes andino-patagónicos semiáridos, selva de Yungas y Selva Paranaense, a los que debemos sumar las numerosas especies endémicas que habitan las llanuras del centro y norte del país (Lavilla 2008).

En la región del Litoral fluvial, y particularmente en la Provincia de Misiones, es interesante destacar que el sitio donde se registró *Bd* para el ejemplar de *Physalaemus* sp. colectado en 2009, coincide con el sitio en el cual se registró el patógeno infectando un ejemplar de *E. bicolor*, encontrado muerto cuatro años antes, en noviembre de 2005 (Arellano *et al.* 2009a). Esta situación refuerza la idea de que el quitridio podría estar establecido produciendo endozootía en los cuerpos de agua de la zona e infectando a varias especies diferentes de anfibios (Briggs *et al.* 2010, Tobler y Schmidt 2010). Por otro lado, y considerando que *Bd* puede formar estructuras de resistencia (Briggs *et al.* 2010, Tobler y Schmidt 2010), resulta de especial importancia continuar con muestreos sistemáticos en este sitio, analizando las diferentes especies que allí habitan.

La biodiversidad misionera figura entre las más altas del país y es la que presenta mayor número de singularidades. Chebez y Casañas (2000) se refieren a “singularidades” como a aquellas especies cuya distribución se restringe en Argentina al territorio de Misiones y al extremo nordeste de Corrientes, es decir, aquellas de distribución netamente Paranaense. En la Provincia de Misiones se registran 50 especies de anfibios, de las cuales 20 son únicas para Argentina (Chebez y Casañas 2000). Por otro lado, la región del límite austral de la Selva Misionera (con la Provincia de Corrientes), donde tiene lugar el ecotono con la ecorregión de los Campos (Cabrera 1976), resulta de sumo interés desde el punto de vista de la conservación, dado que, al igual que el resto de los pastizales templados y subtropicales de Argentina, ha venido sufriendo importantes modificaciones e impactos debido a presiones derivadas de las actividades agrícola-ganaderas desde hace muchas décadas. Su fisonomía encierra islotes de monte con afinidad paranaense y que, por consiguiente, sustentan una alta riqueza biológica a la que se suman elementos propios de los pastizales e incluso de la región del Cerrado brasileiro (Chebez, 1996). En este sentido, es importante destacar que, según Chebez y Casañas (2000), muchas de estas áreas que resultan relevantes para la conservación en base principalmente a registros históricos de la diversidad de especies que albergan, hoy ya no serían claves debido a que se dificulta el diseño de reservas por su presente situación de transformación o alto impacto antrópico (ej.: localidades como bajo Uruguái, Posadas, Montecarlo, El Dorado). Este tipo de situaciones, hacen que las poblaciones de anfibios que habitan estos ecosistemas se encuentren en un estado delicado y con sitios cada vez más restringidos para su desarrollo y reproducción. Si a esta situación se le agrega un potencial brote de quitridiomycosis, este grupo de vertebrados vería complicada su supervivencia en dichas áreas.

Las regiones del Noroeste y Cuyo, ubicadas en el oeste árido argentino, poseen una variedad de ambientes naturales producto de la presencia de numerosas regiones fitogeográficas que dan como resultado la existencia de amplios ecotonos con límites desdibujados (Ávila *et al.* 1998). Esto da lugar a la presencia de una amplia variedad de especies de vertebrados, aunque la fauna de anfibios de esta región continúa aún poco conocida (Ávila *et al.* 1998). Por otro lado, las condiciones climáticas extremas de estos ambientes (por las bajas temperaturas y precipitaciones), y la presencia en esta región de situaciones de impacto ambiental generadas por el hombre, como por ejemplo, alteraciones de los humedales, actividades mineras e introducción de especies exóticas, podrían influir negativamente sobre la fauna de anfibios (Lavilla y Baldo 2011). Dado que estos ambientes poseen escasas precipitaciones, los anfibios están restringidos a espacios pequeños e aislados y su actividad está concentrada en una época acotada del año, por lo que, un brote de quitridiomycosis podría generar serios problemas en la supervivencia de las poblaciones.

En los humedales de la Patagonia, las comunidades biológicas están fuertemente afectadas por efectos antrópicos que han actuado modificando el ambiente (Perotti *et al.* 2005).

En las zonas áridas, los humedales constituyen el hábitat crítico de comunidades acuáticas complejas integradas por especies de invertebrados, peces, anfibios y aves. Estas modificaciones ambientales se hallan mejor documentadas para los peces y los anfibios en relación a otros grupos faunísticos, destacándose la necesidad de proteger esta gran riqueza específica y su importancia desde el punto de vista de la conservación de la fauna autóctona patagónica (Perotti *et al.* 2005 y bibliografía allí citada). La evaluación del estado de conservación de la fauna argentina recomienda la protección de los anfibios de esta región en particular, debido a que la mayoría de sus especies está incluida en listados de conservación prioritaria (Lavilla *et al.* 2000). Por ello, la influencia negativa de una enfermedad emergente como la quitridiomycosis podría tener consecuencias negativas que se verían reflejadas en todo el ecosistema de humedal, convirtiendo a los anfibios en organismos aún más vulnerables.

Por otro lado, se ha propuesto que el aumento de la radiación ultravioleta (UV-B) y la exposición a contaminantes vinculados a las lluvias ácidas, constituyen factores que podrían co-actuar y que favorecerían episodios de quitridiomycosis (Blausstein y Kiesecker 2002, Boone *et al.* 2007, Croteau *et al.* 2008, Singh y Agrawal 2008, Romansic *et al.* 2011). Se han reportado brotes de *Bd* vinculados al efecto sinérgico de estos dos factores en España (Bosch *et al.* 2001) y oeste de Estados Unidos (Muths *et al.* 2003). La elevada incidencia de radiación UV-B también puede ser un factor especialmente relevante en las regiones de Patagonia y Cuyo, debido a su posición latitudinal y cercanía que ofrece la capa de ozono debilitada que comúnmente afecta el sur del continente americano durante las primaveras australes (McKenzie *et al.* 2007, www.theozonhole.com). Sin embargo hay que tener en cuenta que las especies que habitan en estos sitios podrían tener diferente susceptibilidad y haber generado estrategias adaptativas para defenderse de los efectos de la radiación (Perotti y Diéguez 2006).

Presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* y áreas protegidas

Muchas de las poblaciones de anfibios en las que se ha detectado infección por *Bd* en diversas zonas del planeta se encuentran dentro de áreas naturales protegidas (Bosch *et al.* 2001, Burrowes *et al.* 2008, Lips *et al.* 2003). El mismo panorama se repite para la batracofauna argentina (Fox *et al.* 2005, Arellano *et al.* 2006, Delgado *et al.* 2010, Gutiérrez *et al.* 2010, este estudio). Los dos ejemplares de *H. pulchellus* hallados con infección en la Provincia de Santa Fe representan un 25% de las muestras tomadas para esta especie en el recientemente creado Parque Nacional Islas de Santa Fe (antes Reserva Provincial de Recursos “El Rico”). Es interesante destacar que en este sitio se muestrearon un total de 28 ejemplares, pertenecientes a 6 especies de anuros (*H. pulchellus*, *Dendropsophus nanus*, *Leptodactylus latrans*, *Rhinella fernandezae*, *R. schneideri* y *Scinax nasicus*) y solo dos ejemplares de *H. pulchellus* dieron positivo para *Bd*. Este fenómeno puede deberse a que la mayor actividad de la especie coincide

con la época en la que las condiciones ambientales son óptimas para el desarrollo de este hongo quitridial y a que sus renacuajos invernales tienen un desarrollo lento y un período larval que puede durar varios meses (Lajmanovich 2000, López *et al.* 2011). Otra de las cuestiones a considerar es el esperable incremento en la actividad humana (tránsito de personas y embarcaciones) en esta zona debido a una apertura del Parque Nacional Islas de Santa Fe al turismo (este Parque Nacional es el primero creado en el territorio santafecino). Desde su creación, aún no se ha designado personal responsable exclusivamente del control de las visitas y el cuidado dentro de este PN, y para la custodia del mismo se cuenta como base de operaciones la intendencia del Parque Nacional Pre Delta, que si bien se encuentra cercano, recibe a unas 80 mil personas por año, por lo que el personal probablemente se hallará sobrepasado. Eventualmente, esta situación podría constituirse en un ‘puente’ de transmisión de *Bd* entre los parques mediante el transporte de esporas por el tránsito continuo de los guardaparques.

Respecto al Parque Nacional Laguna Blanca (Neuquén), algunos autores (Cuello y Perotti 2006, Ortubay *et al.* 2006, Cuello *et al.* 2009), propusieron que la desaparición de la mayor población de *A. patagonicus* (la que habitaba la Laguna Blanca) podría deberse, principalmente, al efecto negativo que tuvo la introducción de la perca (*Percichthys colhuapiensis*), a través de un impacto directo por la depredación e indirectamente por modificaciones del hábitat (principalmente su efecto negativo sobre las macrófitas que estructuran éstos hábitats utilizados por estos anfibios). Adicionalmente a la presión que debió ejercer esta especie invasora sobre los anfibios, una depresión inmunológica causada por la situación estresante de la introducción de la perca podría haber incrementado la susceptibilidad de esta población a la quitridiomycosis. Teniendo en cuenta que la perca fue introducida en la laguna Blanca en 1965, y recién en 1986 (21 años después) se produjo la desaparición de la rana en esta laguna (Administración de Parques Nacionales 1993), se podría postular que las ranas convivieron con otros factores estresantes diferentes al *Bd* que ubicándolas al límite de su capacidad de supervivencia, y que cualquier nuevo factor negativo que impacte sobre las poblaciones podría ser causal de extinciones locales en los cuerpos de agua donde se registró *Bd*. Por otro lado, en este parque habitan ‘pobladores históricos’ que llevan su ganado a abreviar a las distintas lagunas, pudiendo estos animales actuar como dispersores de las esporas del hongo entre los cuerpos de agua. También existe un flujo constante de aves acuáticas entre las lagunas que podrían estar trasportando esporas entre las mismas dada su capacidad queratinolítica, comprobada con distintas plumas de aves (Mitchell *et al.* 2008, Kilpatrick *et al.* 2010).

En otras ecorregiones marcadamente diferentes de las anteriormente descritas, también se han detectado poblaciones de anfibios infectadas con *Bd* habitando áreas naturales protegidas. Por ejemplo, en la región pampeana, dentro de la Reserva Natural Punta Lara

(Provincia de Buenos Aires) (Arellano *et al.* 2006, Delgado *et al.* 2010), y en las serranías centrales de Argentina, en la Reserva Natural Estricta “Quebrada de las Higuieritas” (Provincia de San Luis) (Gutiérrez *et al.* 2010). Los abundantes registros de quitridio en áreas protegidas sugieren que las mismas no constituyen barreras para que los anfibios que las habitan queden efectivamente aislados de la infección por el hongo quitridial (Burrowes *et al.* 2008), ya que la dispersión de las esporas se puede dar incluso a través de organismos vectores y no sólo por actividades antrópicas (Kilpatrick *et al.* 2010). En este sentido, los sitios que actúan como reservorios de *Bd* por presentar esporas en sus charcas pueden jugar un rol importante en el mantenimiento y transmisión del hongo durante una epidemia (Lips *et al.* 2006, Richards-Zawacki 2009), sobre todo si tenemos en cuenta que *Bd* puede sobrevivir algún tiempo en ausencia de sus hospedadores (Alford *et al.* 2007, Kilpatrick *et al.* 2010).

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Administración de Parques Nacionales. 1993. Plan General de Manejo del Parque Nacional Laguna Blanca. Buenos Aires, Argentina. Delegación Técnica Regional Patagónica, Administración de Parques Nacionales. 63 pp.
- Agostini MG, Natale GS, Burrowes PA. 2010. Presencia y prevalencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* en ensamblajes de anuros de los alrededores de la ciudad de La Plata. XI Congreso Argentino de Herpetología. Libro de Resúmenes. p. 9.
- Alford RA, Bradfield KS, Richards SJ. 2007. Global warming and amphibian losses. *Nature*. 447: E3-E4.
- Arellano ML, Natale GS, Ghirardi R, Steciow MM, Lavilla EO. 2009b. Infección Experimental por *Batrachochytrium dendrobatidis* en seis especies de anuros de Argentina. X Congreso Argentino de Herpetología. Libro de Resúmenes. p. 64.
- Arellano ML, Ferraro DP, Steciow MM, Lavilla EO. 2009a. Infection by the chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* in the yellow belly frog (*Elachistocleis bicolor*) from Argentina. *Herpetological Journal*. 19: 217-220.
- Arellano ML, Agostini MG, Herrera R, Steciow MM, Lavilla E, Barraso D. 2006. Nuevo hallazgo de quitridiomycosis en el noreste de la provincia de Buenos Aires. VII Congreso Argentino de Herpetología. Libro de Resúmenes. p. 124.
- Arzamendia V, Giraud AR. 2009 Influence of large South American rivers of the Plata Basin on distributional patterns of tropical snakes: a panbiogeographical analysis. *Journal of Biogeography*. 36: 1739-1749.
- Ávila LJ, Acosta JC, Murúa AF. 1998. Herpetofauna de la Provincia de San Juan, Argentina: lista comentada y distribución geográfica. *Cuadernos de Herpetología*. 12(1): 11-29.
- Barriónuevo JS, Ponssa ML. 2008. Decline of three species of the genus *Telmatobius* (Anura: *Leptodactylidae*) from Tucumán province, Argentina. *Herpetologica*. 64: 47-62.
- Barriónuevo JS, Mangione S. 2006. Chytridiomycosis in two species of *Telmatobius* (Anura: *Leptodactylidae*) from Argentina. *Diseases of Aquatic Organisms*. 73: 171-174.
- Beldomenico PM. 2006. Medicina y animales silvestres: desafío para las Ciencias Veterinarias en el siglo XXI. *Revista FAVE*. 5(1-2): 7-20.
- Beldomenico PM, Antoniazzi LR, Paggi G, Acosta N, Kiener M, Sguerzo W, Perassi R, Camuz Ligios L, Costas L, Macedo A, Bravo C, Acosta L, Reja PK, Requena WH. 2003. Roles de la medicina veterinaria en la biología de la conservación. *Sitio Argentino de Producción Animal*. p. 1-5.
- Berger L, Speare R, Daszak P, Green DE, Cunningham AA, Goggin CL, Slocombe R, Ragan MA, Hyatt AD, McDonald KR, Hines HB, Lips KR, Marantelli G, Parkes H. 1998. Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rainforests of Australia and Central America. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 95: 9031-9036.
- Berger L, Speare R, Hyatt A. 1999. Chytrid fungi and amphibian declines: Overview, implications and future directions. p. 23-33. En: Campbell A (ed) *Declines and disappearances of Australian frogs*. Canberra, Australia: Biodiversity Group Environment Australia.
- Berger L, Speare R, Hines HB, Marantelli G, Hyatt AD, McDonald KR, Skerrat LF, Olsen V, Clark JM, Gillespie G, Mahony M, Sheppard N, Williams C, Tyler MJ. 2004. Effect of season and temperature on mortality in amphibians due to chytridiomycosis. *Australian Veterinary Journal*. 82: 31-36.
- Blanford S, Thomas MB. 1999. Host thermal biology: the key to understanding host-pathogen interactions and microbial pest control? *Agricultural and Forest Entomology*. 1: 195-202.
- Blanford S, Thomas MB, Pugh C, Pell JK. 2003. Temperature checks the red queen? Resistance and virulence in a fluctuating environment. *Ecological Letters*. 6: 2-5.
- Blaustein AR, Kiesecker JM. 2002. Complexity in conservation. Lessons from the global decline of amphibian populations. *Ecological Letters*. 5: 597-608.
- Blaustein AR, Romansic JM, Scheesele EA, Han BA, Pessier AP, Longcore JE. 2005. Interspecific variation in susceptibility of frog tadpoles to the pathogenic fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Conservation Biology* 19: 1460-1468.
- Blaustein AR, Bancroft BA. 2007. Amphibian population declines: evolutionary considerations. *BioScience*. 57: 437-444.
- Boone MD, Semlitsch RD, Little EE, Doyle MC. 2007. Multiple stressors in amphibian communities: effects of chemical contamination, bullfrogs, and fish. *Ecological Applications* 17: 291-301.

- Bosch J, Martinez-Solano I, Garcia-Paris 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: 331-7.
- Boyle DG, Boyle V, Olsen JA, Morgan JA Hyatt AD. 2004. Rapid quantitative detection of chytridiomycosis (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in amphibian samples using real-timePCR assay. *Diseases of Aquatic Organisms*. 60: 133-139.
- Briggs CJ, Knapp RA, Vredenburg VT. 2010. 'Enzootic and epizootic dynamics of the chytrid fungal pathogen of amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 107(21): 9695-9700.
- Briggs CJ, Vredenburg VT, Knapp RA, Rachowicz LJ. 2005. Investigating the population-level effects of chytridiomycosis: An emerging infectious disease of amphibians. *Ecology*. 86: 3149-3159.
- Brooks TM, Mittermeier RA, Da Fonseca GAB, Gerlach J, Hoffmann M, Lamoreux JF, Mittermeier CG, Pilgrim JD, Rodrigues ASL. 2006. Global Biodiversity Conservation Priorities. *Science*. 313: 58-61.
- Buck J, Truong L, Blaustein A. Biodiversity and Conservation Online first DOI 10.1007/s10531-011-0147-4
- Burrowes PA, Joglar RL, Green DE. 2004. Potential causes for amphibian declines in Puerto Rico. *Herpetologica*. 60: 141-154.
- Burrowes PA, Longo AL, Joglar RL, Cunningham AA. 2008. Geographic Distribution of *Batrachochytrium dendrobatidis* in Puerto Rico. *Herpetological Review*. 39(3): 321-324.
- Cabrera AL. 1976. Regiones fitogeográficas argentinas. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Segunda Edición, Tomo II. Editorial ACME S.A.C.I. Buenos Aires. 85pp.
- Carruthers RI, Larkin TS, Firstencel H, Feng Z. 1992. Influence of thermal ecology on the mycosis of a rangeland grasshopper. *Ecology*. 73: 190-204.
- Cei JM. 1950. *Leptodactylus chaquensis* N. sp. y el valor sistemático de la especie Lenneana *Leptodactylus ocellatus* en la Argentina. *Acta Zoológica Lilloana*. IX: 395-423.
- Cei JM. 1972. Segregación corológica y procesos de expectación por aislamiento en anfibios de la Pampa de Achala, Córdoba. *Acta Zoológica Lilloana*. 29: 233-246.
- Cei JM. 1980. Amphibians of Argentina. *Monitore Zoologico Italiano, Italian Journal of Zoology, Monografia* 2. 609 pp.
- Corbalán V, Debandi G, Martinez F. 2010. *Alsodes pehuenche* (Anura: Cycloramphidae): Past, Present and Future. *Cuadernos de Herpetología*. 24: 3-14.
- Correa C, Sallaberry M, González BA, Soto ER, Méndez MA. 2007. Amphibia, Anura, Leiuperidae, *Pleurodema thaul*: Latitudinal and altitudinal distribution extension in Chile. *Check List*. 3: 267-270
- Croteau MC, Davidson MA, Lean DRS, Trudeau VL. 2008. Global Increases in Ultraviolet B Radiation: Potential Impacts on Amphibian Development and Metamorphosis. *Physiological and Biochemical Zoology*. 81(6): 743-761.
- Cuello ME, Perotti MG, Iglesias GJ. 2009. Dramatic decline and range contraction of the Endangered Patagonian frog *Atelognathus patagonicus* (Anura, Leptodactylidae). *Oryx*. 43(3): 443-446.
- Cuello ME, Perotti MG. 2006. Decline of the endemic frog *Atelognathus patagonicus* from Laguna Blanca, Neuquén, Argentina: assessment of the effect of fish introduction. *FrogLog*. 73: 1-2.
- Cuello ME, Bello MT, Kun M, Úbeda CA. 2006. Feeding habits and their implications for the conservation of the endangered semi aquatic frog *Atelognathus patagonicus* (Anura, Neobatrachia) in a northwestern Patagonian pond. *Phyllomedusa*. 5: 67-76.
- Chebez JC, Casañas H. 2000. Áreas Claves para la Conservación de la Biodiversidad de la Provincia de Misiones, Argentina (Fauna Vertebrada). Puerto Iguazú. 79 pp.
- Chebez JC. 1996. Fauna Misionera, Catálogo Sistemático y Zoo-geográfico de los Vertebrados de la Provincia de Misiones (Argentina). Edit. L.O.L.A., Buenos Aires, Argentina.
- DAPTF. 1998. Declining Amphibian Populations Task Force. (<http://www.open.ac.uk/daptf/>).
- Daszak P, Berger L, Cunningham AA, Hyatt AD, Green DE, Speare R. 1999. Emerging infectious disease and amphibian population declines. *Emerging Infectious Diseases*. 5: 735-748.
- Daszak P, Striemy A, Cunningham AA, Longcore JE, Brown CC, Porter D. 2004. Experimental evidence that the bullfrog (*Rana catesbeiana*) is a potential carrier of chytridiomycosis, an emerging fungal disease of amphibians. *Herpetological Journal*. 14: 201-207.
- Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD. 2003. Infectious disease and amphibian population declines. *Diversity and Distributions*. 9: 141-150.

- Delgado CS, Natale GS, Barraso DA, Herrera RH. 2010. Presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* en *Physalaemus fernandezae* (Anura: Leiuperidae) para Buenos Aires, Argentina. XI Congreso Argentino de Herpetología. Libro de Resúmenes. p. 62.
- Di Rosa I, Simoncelli F, Fagotti A, Pascolini R. 2007. The proximate cause of frog declines?. *Nature*. 447: E4-E5.
- Di Tada EI, Barla MJ, Martori RA, Cei JM. 1984. *Odontophrynus achalensis* una nueva especie de anfibio de la Pampa de Achala (Córdoba, Argentina). *Historia Natural*. 4: 149-156.
- Dowell SF. 2001. Seasonal variation in host susceptibility and cycles of certain infectious diseases. *Emerging Infectious Diseases*. 7: 369-74.
- Drew A, Allen EJ, Allen LJS. 2006. Analysis of climatic and geographic factors affecting the presence of chytridiomycosis in Australia. *Diseases of Aquatic Organisms*. 68: 245-250.
- Ferraro DP y Casagrande MD. 2009. Geographic distribution of the genus *Pleurodema* in Argentina (Anura: Leiuperidae). *Zootaxa*. 2024(3): 33-55.
- Fox SF, Greer AL, Torres-Cervantes R, Collins JP. 2006. First case of ranavirus associated morbidity and mortality in natural populations of the South American frog *Atelognathus patagonicus*. *Diseases of Aquatic Organisms*. 72: 87-92.
- Fox SF, Yoskioka JH, Cuello ME, Úbeda CA. 2005. Status, distribution, and ecology of a threatened semi-aquatic frog (*Atelognathus patagonicus*) of northwestern Patagonia Argentina. *Copeia*. 4: 921-929.
- Garner TWJ, Perkins M, Govindarajulu P, Seglie D, Walker SJ, Cunningham AA, Fisher MC. 2006. The emerging amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* globally infects introduced populations of the North American bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Biology Letters*. 2: 455-459.
- Ghirardi R, Perotti MG, Steciow MM, Arellano ML, Natale GS. 2011. Potential distribution of *Batrachochytrium dendrobatidis* in Argentina: implications in amphibian conservation. *Hydrobiologia*. 659: 111-115.
- Ghirardi R, Lescano JN, Longo MS, Robledo G, Steciow MM, Perotti MG. 2009. *Batrachochytrium dendrobatidis* in Argentina: first record in *Leptodactylus gracilis* and another record in *Leptodactylus ocellatus*. *Herpetological Review*. 40: 175-176.
- Ghirardi R, Sanabria EA, Quiroga LB, Perotti MG, Levy MG. 2009b. *Lithobates catesbeianus* en Argentina y su relación con la quitridiomycosis. X Congreso Argentino de Herpetología. Libro de Resúmenes. p 20.
- Ghirardi R, Perotti MG, López JA, Levy MG, Steciow MM. 2009c. *Batrachochytrium dendrobatidis* en Laguna Blanca: desafíos para la conservación de *Atelognathus patagonicus*. X Congreso Argentino de Herpetología. Libro de Resúmenes. p36.
- Gosner KL. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*. 16: 183-190.
- Gutierrez FR, Arellano ML, Moreno LE, Natale GS. 2010. *Batrachochytrium dendrobatidis* in Argentina: first record of infection in *Hypsiboas cordobae* and *Odontophrynus occidentalis* tadpoles in San Luis province. *Herpetological Review*. 41: 323-325.
- Hanselmann R, Rodriguez A, Lampo M, Fajardo-Ramos L, Aguirre AA, Kilpatrick AM, Rodriguez JP, Daszak P. 2004. Presence of an emerging pathogen of amphibians in introduced bullfrogs (*Rana catesbeiana*) in Venezuela. *Biology Conservation*. 120: 115-119.
- Harris RN, Brucker RM, Walke JB, Becker MH, Schwantes CR, Flaherty DC, Lam BA, Woodhams DC, Briggs CJ, Vredenburg VT, Minbiole KPC. 2009. Skin microbes on frogs prevent morbidity and mortality caused by a lethal skin fungus. *ISME Journal* 3: 818-824.
- Herrera RA, Steciow MM, Natale GS. 2005. Chytrid fungus parasitizing the wild amphibian *Leptodactylus ocellatus* (Anura: Leptodactylidae) in Argentina. *Diseases of Aquatic Organisms*. 64: 247-252.
- Hyatt AD, Boyle DG, Olsen V, Boyle DB, Berger L, Obendorf D, Dalton A, Kriger KM, Hero M, Hines H, Phillott AD, Campbell R, Marantelli G, Gleason FH, Colling A. 2007. Diagnostic assays and sampling protocols for the detection of *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Diseases of Aquatic Organisms*. 73: 175-192.
- IUCN, Conservation International and NatureServe. 2006. Global Amphibian Assessment. Disponible en: www.globalamphibians.org.
- Jackson JA, Tinsley RC. 2002. Effects of environmental temperature on the susceptibility of *Xenopus laevis* and *X. wittei* (Anura) to *Protopolystoma xenopodis* (Monogenea). *Parasitology Research*. 88: 632-638.
- Jara FG, Perotti MG. 2009. La rana de cuatro ojos en la laguna Fantasma de Bariloche. Desde la Patagonia: Difundiendo Saberes. 2009(5):10-15.
- Kilpatrick AM, Briggs CJ, Daszak P. 2010. The ecology and impact of chytridiomycosis: an emerging disease of amphibians. *Trends in Ecology and Evolution*. 25(2): 109-118.

- Klass JI, Blanford S, Thomas MB. 2007. Use of a geographic information system to explore spatial variation in pathogen virulence and the implications for biological control of locusts and grasshoppers. *Agricultural and Forest Entomology* 9: 201-208.
- Knapp RA, Morgan JAT. 2006. Tadpole mouthpart depigmentation as an accurate indicator of chytridiomycosis, an emerging disease of amphibians. *Copeia*. 2006: 188-197.
- Kraus F. 2009. Alien reptiles and amphibian. A scientific compendium and analysis. *Invading nature: Springer series in invasion ecology* 4, USA. 555 p.
- Kruger KM, Hero JM. 2006. Large scale seasonal variation in the prevalence and severity of chytridiomycosis. *Journal of Zoology*. 271: 352-359.
- Kwet A, Aquino L, Lavilla EO, di Tada I. 2004. *Hypsiboas pulchellus*. En: IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 15 September 2011.
- Laine L. 2008. Temperature-mediated patterns of local adaptation in a natural plant-pathogen metapopulation. *Ecological Letters*. 11: 327-337.
- Lajmanovich RC. 2000. Interpretación ecológica de una comunidad larvaria de anfibios anuros. *Interciencia*. 25(2): 71-79.
- Lam BA, Walke JB, Vredenburg VT, Harris NT. 2010. Proportion of individuals with anti-*Batrachochytrium dendrobatidis* skin bacteria is associated with population persistence in the frog *Rana muscosa*. *Biological Conservation*. 143(2010) 529-531.
- Lauer A, Simon MA, Banning JL, André E, Duncan K, Harris N. 2007. Common cutaneous bacteria from the eastern red-backed salamander can inhibit pathogenic fungi. *Copeia*. 2007(3): 630-640.
- Laurence WF. 1996. Catastrophic declines of Australian rainforest frogs: Is unusual weather responsible? *Biological Conservation*. 77: 203-212.
- Lavilla EO. 2004a. *Telmatobius atacamensis*. En: IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 27 July 2011.
- Lavilla EO. 2004b. *Telmatobius pisanoi*. En: IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 27 July 2011.
- Lavilla EO, Baldo D. 2011. Los Anfibios de la República Argentina: Una síntesis sobre su estado de conservación. Manejo de Fauna en la Argentina: Acciones para la Conservación de Especies Amenazadas. Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación.
- Lavilla EO. 2008. Declinaciones poblacionales y extinciones en Anfibios de Argentina. Anticipo de Anales de la Academia Nacional de Ciencias de Buenos Aires. 7 pp.
- Lavilla EO, Cei JM. 2001. Amphibians of Argentina. A Second Update, 1987-2000. Monografía XXVII, Museo Regionale di Scienze Naturale, Torino, Italy.
- Lavilla EO, Ponssa ML, Baldo D, Basso N, Bosso A, Céspedes J, Chebez JC, Faivovich J, Ferrari L, Lajmanovich R, Langone JA, Peltzer P, Ubeda C, Vaira M, Vera Candioti F. 2000a. Categorización de los Anfibios de Argentina. En: Lavilla EO, Richard E, Scrocchi GJ (ed.). Categorización de los Anfibios y Reptiles de la República Argentina. Edición Especial Asociación Herpetológica Argentina. Argentina. 11-34.
- Lavilla EO, Di Tada I. 2004a. *Pleurodema kriegi*. En: IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 27 July 2011.
- Lavilla EO, Di Tada I. 2004b. *Odontophrynus achalensis*. En: IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 27 July 2011.
- Lavilla EO, Di Tada I, Reading CJ. 2008. *Rhinella achalensis*. En: IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 27 July 2011.
- Lavilla EO, Basso N. 2004. *Alsodes pehuenche*. En: IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 15 August 2011.
- Lazarro BP, Flores HA, Lorigan JG, Yourth CP. 2008. Genotype-by-environment interactions and adaptation to local temperature affect immunity and fecundity in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Pathog*. 4: 1-9.
- Lips K, Reeve JD, Witters L. 2003. Ecological traits predicting amphibian population declines in Central America. *Conservation Biology*. 17: 1078-1088.
- Lips KR, Brem F, Brenes R, Reeve JD, Alford RA, Voyles J, Carey C, Livo L, Pessier AP, Collins JP. 2006. Emerging infectious disease and the loss of biodiversity in a Neotropical amphibian community. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 103: 3165-3170.
- Livo LJ. 2004. Methods for obtaining *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) samples for PCR testing. Department of Integrative Physiology, University of Colorado, Boulder, CO.

- Longcore JC, Pessier AP, Nichols DK. 1999. *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia*. 91: 219-227.
- Longo MS, Lescano JN, Robledo G. 2010. Presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* en anuros endémicos de Pampa de Achala, Córdoba. XI Congreso Argentino de Herpetología. Libro de Resúmenes. p. 106.
- López JA, Scarabotti PA, Ghirardi R. 2011. Seasonal patterns of abundance and recruitment in an amphibian assemblage from the Paraná River floodplain. *Interciencia*. 36(7): 538-544.
- Mazzoni R, Cunningham AA, Daszak P, Apolo A, Perdomo E, Speranza G. 2003. Emerging pathogen of amphibians in frogs (*Rana catesbeiana*) farmed for international trade. *Emerging Infectious Diseases*. 9: 995-998.
- McKenzie RL, Aucamp PJ, Bais AF, Bjorn LO, Ilyas M. 2007. Changes in biologically-active ultraviolet radiation reaching the Earth's surface. *Photochem Photobiol Sciences*. 6: 218-231.
- Merino-Viteri A, Coloma LA, Almendáriz A. 2005. Los *Telmatobius* (Leptodactylidae) de los Andes del Ecuador y su declive poblacional. pp. 9-37. En: Lavilla EO, De la Riva I (eds.), Estudios Sobre las Ranas Andinas de los Géneros *Telmatobius* y *Batrachophrynus* (Anura: Leptodactylidae). Asociación Herpetológica Española, Monografías de Herpetología 7, Valencia, España.
- Mitchell KM, Churcher TS, Garner TWJ, Fisher MC. 2008. Persistence of the emerging pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* outside the amphibian host greatly increases the probability of host extinction. *Proceedings of the Royal Society B* (2008) 275: 329-334.
- Mittermeier RA, Myers N, Thomsen JB, Da Fonseca GAB, Olivieri S. 1998. Biodiversity hotspots and major tropical wilderness areas: approaches to setting conservation priorities. *Conservation Biology*. 12: 516-520.
- Muths E, Corn PS, Pessier AP, Green DE. 2003. Evidence for disease-related amphibian decline in Colorado. *Biological Conservation*. 110: 357-365.
- Ortubay S, Cussac V, Batíni J, Barriga J, Aigo J, Alonso M, Macchi P, Reissig M, Yoshioka J, Fox S. 2006. Is the decline of birds and amphibians in a steppe lake of northern Patagonia a consequence of limnological changes following fish introduction?. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*. 16: 93-105.
- Pereyra M, Baldo D, Krauczuk ER. 2006. La "rana toro" en la selva atlántica interior Argentina: un nuevo problema de conservación. *Cuadernos de Herpetología*. 20: 37-41.
- Perotti MG, Diéguez MC. 2006. Effect of UV-B exposure on eggs and embryos of patagonian anurans and evidence of photoprotection. *Chemosphere*. 65 (11): 2063-2070.
- Perotti MG, Diéguez MC, Jara FG. 2005. Estado del conocimiento de humedales del norte patagónico (Argentina): Aspectos relevantes e importancia para la conservación de la biodiversidad regional. *Revista Chilena de Historia Natural*. 78: 723-737.
- Pessier AP, Nichols DK, Longcore JE, Fuller MS. 1999. Cutaneous chytridiomycosis in poison dart frogs (*Dendrobates spp.*) and White's tree frogs (*Litoria caerulea*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 11: 194-199.
- Pounds JA, Bustamante MR, Coloma LA, Consuegra JA, Fogden MP, Foster PN, La-Marca E, Masters KL, Merino-Viteri A, Puschendorf R, Ron SR, Sánchez-Azofeifa GA, Still CJ, Young BE. 2006. Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming. *Nature*. 439: 161-167.
- Puschendorf R, Bolaños F, Chaves G. 2006. The amphibian chytrid fungus along an altitudinal transect before the first reported declines in Costa Rica. *Biological Conservation*. 132: 136-142.
- Quimby FW, Casey AC, Arquette MF. 2005. From dogs to frogs: how pets, laboratory animals, and wildlife aided in elucidating harmful effects arising from a hazardous dumpsite. *ILAR* 46: 364-369.
- Rachowicz LJ, Knapp RA, Morgan JAT, Stice MJ, Vredenburg VT. 2006. Emerging infectious disease as a proximate cause of amphibian mass mortality. *Ecology*. 87: 1671-1683.
- Rachowicz LJ, Vredenburg VT. 2004. Transmission of *Batrachochytrium dendrobatidis* within and between amphibian life stages. *Diseases of Aquatic Organisms*. 61: 75-83.
- Richards-Zawacki C. 2009. Thermoregulatory behavior affects prevalence of chytrid fungal infection in a wild population of Panamanian golden frogs. *Proceedings of the Royal Society B*. doi: 10.1098/rspb.2009.1656
- Rollins-Smith LA, Carey CJ, Conlon M, Reinert LK, Doersam JK, Bergman T, Silberring J, Lankinen H, Wade D. 2003. Activities of Temporin Family Peptides against the chytrid fungus (*Batrachochytrium dendrobatidis*) associated with global amphibian declines. *Antimicrobial Agents Chemother*. 47: 1157-1160.
- Rollins-Smith LA, Reinert LK, O'Leary CJ, Houston LE, Woodhams DC. 2005. Antimicrobial peptide defenses in amphibian skin. *Integrative and Comparative Biology*. 45: 137-142.
- Romansic JM, Johnson PTJ, Searle CL, Johnson JE, Tunstall TS, Han BA, Rohr JR, Blaustein AR. 2011. Individual and combined effects of multiple pathogens on Pacific treefrogs. *Oecologia*. 166: 1029-1041.

- Rowley JLL, Alford RA. 2007. Movement patterns and habitat use of rainforest stream frogs in northern Queensland, Australia: implications for extinction vulnerability. *Wildlife Research*. 34: 371-378.
- Sanabria EA, Debandi G, Quiroga LB, Martínez F, Corbalán V. 2011b. First record of the American bullfrog *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802) in Mendoza province, Argentina. *Cuad. herpetol.* 25(2).
- Sanabria EA, Quiroga LB, Acosta JC. 2005. Introducción de la *Rana catesbeiana* (Rana toro) en ambientes Pre-cordilleranos de la Provincia de San Juan, Argentina. *Multequina*. 14: 65-68.
- Sanabria EA, Ripio Y, Jordan M, Quiroga LB, Ariza M, Guillemain M, Perez M, Chávez H. 2011a. A new record for American Bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) in San Juan, Argentina. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 82:311-313.
- Scarabotti PA. 2009. Pulso de inundación y la coexistencia de larvas de anfibios con peces en ambientes leníticos del valle de inundación del río Salado, (Santa Fe). Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas. Córdoba: Universidad Nacional de Córdoba. 102pp.
- Singh A, Agrawal M. 2008. Acid rain and its ecological consequences. *Journal of Environmental Biology*. 29(1): 15-24.
- Tobler U, Schmidt BR. 2010. Within -and among- population variation in chytridiomycosis-induced mortality in the toad *Alytes obstetricans*. *PLoS ONE*. 5(6): e10927.
- Úbeda C, Grigera D. 2007. El grado de protección de los anfibios patagónicos de Argentina. *Ecología Austral*. 17: 269-279.
- Úbeda C, Lavilla EO, Basso N. 2008. *Atelognathus patagonicus*. En: IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 27 July 2011.
- IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 27 July 2011.
- Valetti JA, Salas NE, Martino AL. 2009. A new polyploid species of *Pleurodema* (Anura: *Leiuperidae*) from Sierra de Comechingones, Córdoba, Argentina and redescription of *Pleurodema kriegi* (Müller, 1926). *Zootaxa*. 2073: 1-21.
- Vaz-Ferreira R, Gehrau A. 1975. Comportamiento epimelético de la rana común *Leptodactylus ocellatus* (Amphibia, Leptodactylidae) Atención de la cria y actividades alimentarias y agresivas relacionadas. *Physis*. Sección B. 34(88): 1-14.
- Weldon C, Du Preez LH, Hyatt AD, Muller R, Speare R. 2004. Origin of the amphibian chytrid fungus. *Emerging Infectious Diseases*. 10: 2100-2105.
- Williams SE, Hero JM. (1998). Rainforest frogs of the Australian wet tropics: Guild classification and the ecological similarity of declining species. *Proceedings of the Royal Society of London B*. 265(1396): 597-602.
- Woodhams DC, Ardipradja K, Alford RA, Marantelli G, Reinert LK, Rollins-Smith LA. 2007. Resistance to chytridiomycosis varies among amphibian species and is correlated with skin peptide defenses. *Animal Conservation*. 10: 409-417.
- Zukerman W. 2010. Fungus out! The frog resistance is here. *New Scientist Magazine*. 2790: 14.

CAPITULO III

“... *Son los problemas sin resolver, no los resueltos,
los que mantienen activa la mente ...*”
(Edwin Guido Kolbenheyer)

POSIBLES VECTORES DE *Batrachochytrium dendrobatidis*: EL CASO DE LA RANA TORO NORTEAMERICANA (*Lithobates catesbeianus*; Anura: Ranidae)

INTRODUCCIÓN

El comercio mundial de anfibios involucra a cientos de especies, y en todos los continentes se superpone con ejemplares portadores de *Bd* (Nace *et al.* 1971, Gorzula 1996, Schlaepfer *et al.* 2005), por lo que se considera que esta práctica podría constituir un vehículo para el transporte de hospedadores y sus patógenos asociados (Picco y Collins 2008), sumado a que existe evidencia que el comercio y movimiento de anfibios resulta una de las actividades humanas responsables de la dispersión de la quitridiomycosis (Daszak *et al.* 2004, Garner *et al.* 2006, Fisher y Garner 2007, Bai *et al.* 2010). Numerosos trabajos advierten sobre la presencia de *Bd* vinculada a la compra-venta de ejemplares para mascotismo (Mutschmann *et al.* 2000), ornamentación de estanques (Groff *et al.* 1991), acuicultura (Mazzoni *et al.* 2003), zoológicos (Pessier *et al.* 1999) y actividades de laboratorio (Reed *et al.* 2000), entre otros (*e.g.* Daszak *et al.* 2004, Picco y Collins 2008).

Debido a que este tipo de actividades en general no cuentan con regulaciones estrictas en los diferentes niveles de la comercialización (local, regional, nacional o internacional), resulta habitual el movimiento y, muchas veces, la liberación de animales y sus patógenos en diferentes áreas y a lo largo de amplias distancias. Como resultado, los patógenos de los anfibios introducidos pueden ser dispersados en regiones donde las especies nativas son vulnerables y generar consecuencias desconocidas a nivel de poblaciones o incluso de especies (Picco *et al.* 2007).

La rana toro norteamericana, *Lithobates catesbeianus* (Anura: Ranidae), es nativa del este de Canadá, Estados Unidos y norte de México (Frost 2009), pero ha sido introducida accidental o intencionalmente en más de 40 países para el desarrollo de diferentes actividades como acuicultura (y alimentación), ornamentación de piletas de jardines y agente de biocontrol, entre otros (Esteal 1981, Jennings y Hayes 1985, Helfrich *et al.* 2001).

Esta especie de anuro se ha dispersado por casi todo el mundo, causando serios problemas para muchas especies acuáticas y modificando el funcionamiento de los ecosistemas

(Rosen y Schwalbe 1995, Kiesecker y Blaustein 1998). Algunos de sus atributos biológicos como su gran tamaño, amplios hábitos alimenticios y uso del hábitat, así como su elevado potencial reproductivo, convierten a las ranas toro en invasores extremadamente exitosos y en un problema para otros anfibios, la biodiversidad y los ecosistemas en general (Stumpel 1992, Kiesecker y Blaustein 1998, Adams 2000, Pearl *et al.* 2004, Global Invasive Species Database 2005, Kaefer *et al.* 2007, Laufer *et al.* 2008). Por esta razón, este anfibio es considerado como una de las 100 especies invasoras más dañinas del mundo por el Grupo de Especialistas en Invasiones de la UICN (Lowe *et al.* 2000).

La rana toro es una especie ampliamente utilizada en acuicultura, especialmente para fines gastronómicos (FAO © 2005-2011). Varios estudios han demostrado la presencia de *Bd* en ranas toro de criadero y, recientemente, en poblaciones asilvestradas en diversas regiones del mundo (Garner *et al.* 2006, Bai *et al.* 2010), incluida América del Sur (Mazzoni *et al.* 2003, Hanselmann *et al.* 2004, Garner *et al.* 2006) y particularmente en Argentina (Ghirardi *et al.* 2009a, 2009b).

En América del Sur, se han reportado poblaciones de rana toro viviendo en silvestría en varios países como Argentina (Sanabria *et al.* 2005), Colombia (Rueda Almonacid 2000), Brasil (Borges-Martins *et al.* 2002, Giovanelli *et al.* 2008), Ecuador (Cisneros-Heredia 2004), Venezuela (Hanselmann *et al.* 2004), Uruguay (Laufer *et al.* 2008), Chile, Guyana, Paraguay y Perú (Frost 2009). En muchos de estos países también se han encontrado poblaciones de estos anfibios infectadas por *Bd* (e.g. Argentina: Ghirardi *et al.* 2009b, 2011; Brazil: Garner *et al.* 2006; Uruguay: Mazzoni *et al.* 2003 y Venezuela: Hanselmann *et al.* 2004).

La acuicultura en Argentina, particularmente, la cría de ranas (ranicultura) tiene sus primeros registros en el año 1935, justamente con la introducción de rana toro (Luchini 1995). Sin embargo, esas primeras experiencias no prosperaron como práctica de cría y el fracaso es adjudicado a falta de conocimiento sobre la factibilidad técnica y requerimientos para la producción de estos organismos acuáticos en aquella época (Luchini 1995). Posteriormente se intentaron ensayos con una modalidad extensiva de cría con la especie nativa rana criolla o *ayuí* (*Leptodactylus latrans*) en la Provincia de Córdoba, pero tampoco prosperaron (Luchini 1995). A mediados de los '80, comenzó una segunda introducción significativa y exitosa de rana toro para propósitos de acuicultura comercial (Vigliano y Darrigan 2002), esta vez con mecanismos más simples para el ingreso de esta especie al país. Entonces, el inicio a mayor escala y en continuo de la ranicultura en el país se produce a partir del año 1985, con las primeras instalaciones exitosas bajo sistema de cría intensiva de *L. catesbeianus*.

La Dirección de Acuicultura del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación, efectuó por primera vez un relevamiento de establecimientos dedicados a la producción de organismos acuáticos en 1993 y, entre estos establecimientos, los de ranicultura. Los datos relevados muestran para 1994 un total de 69 ranarios instalados, ubicados en 9 de las 23

provincias en territorio argentino, entre las que se destacaban por el número de establecimientos o tamaño de los mismos las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Santa Fe y Santiago del Estero (Luchini 1995).

A pesar del estímulo que generó esta actividad, la gran mayoría de los emprendimientos se desarrollaron en regiones consideradas climáticamente marginales (clima templado o templado-cálido), "con restricción" para cría de la rana toro debido a la gran amplitud térmica (Luchini y Panne Huidoro 2008), considerada como factor negativo para un crecimiento óptimo de las ranas en el tiempo adecuado para generar ganancias comerciales. Algunas de las razones de la pronta decadencia de la ranicultura en Argentina fueron enumeradas por Rodríguez (2007) como sigue:

1. Escasa productividad: la rana toro está considerada como una de las especies más favorables para la ranicultura. Sin embargo, para producir un animal de 185gr se necesitan 520gr de alimento y sólo se aprovechan los cuartos traseros para el consumo.
2. Dificultades en la alimentación: la mayoría de los anfibios se alimentan de presas vivas, por lo que estas presas deben criarse en la propia explotación.
3. Problemas sanitarios: por tratarse de un animal que vive en el medio acuático, la rana se encuentra más sujeta a contagios que los vertebrados estrictamente terrestres. La delicadeza de su piel la hace un animal propenso a enfermedades cutáneas, tanto víricas como bacterianas y fúngicas. Además, los anfibios son muy propensos a las parasitosis.
4. Dificultades intrínsecas a su cría: el hecho de ser animales que necesitan un medio acuático de calidad restringe en gran parte las áreas adecuadas para situar una explotación de cría de ranas. En muchos casos, en los que el ganadero dispone de masas de agua dulce, es mucho más rentable dedicarse a la producción piscícola que a la ranicultura.
5. Problemas legales: en muchas zonas existen legislaciones que impiden en la práctica la explotación de especies exóticas. La ranicultura basada en la rana toro o en diversas especies tropicales es actualmente desechada por los innumerables riesgos tanto a nivel micro como macroecológico (transmisión de enfermedades, alteración de cadenas tróficas, etc.) que producirían los ejemplares que potencialmente escapan de los establecimientos productivos.

Recién en el año 1994 -diez años después del comienzo de esta actividad-, y luego de la desaparición de muchos de estos emprendimientos, la Dirección de Acuicultura de la Nación reglamentó la introducción de organismos acuáticos en el territorio argentino, así como la inscripción de los establecimientos de acuicultura en un Registro Nacional. De esta manera, todos aquellos establecimientos que desarrollen cría de organismos a través de la importación de

los mismos o, aquellos establecimientos que posteriormente procedan a la venta fuera de la provincia donde estén instalados, incluida la comercialización al exterior, debían estar inscriptos en un Registro Nacional (Luchini 1995).

Posteriormente, en el año 1997 se establecieron las normas que regularían la producción de Organismos Acuáticos Vivos en el Territorio de la República Argentina según Resolución de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación (SAGPyA) N° 987/97, basada en el expediente N° 800-011452/97 de la SAGPyA y las Resoluciones N° 902 y 903 del 19 de octubre de 1994, ambas del registro de la ex SAGPyA.

Por otro lado, a fines de la década del '90, se reporta que los únicos países que aparecen como productores de ranas a nivel internacional, con exportación de ancas de rana toro provenientes de cría son Taiwán e Indonesia y, dentro de América Latina, como productores regionales y locales se pueden considerar: Brasil, Uruguay, Ecuador y Argentina (Luchini 1995). Brasil alcanza en la actualidad una mayor relevancia dentro del escenario mundial, liderando junto a Taiwán la producción de rana toro (FAO © 2005-2011).

Teniendo en cuenta la continuidad de la actividad en el país (aunque en menor escala que en sus inicios), se crea la Asociación Argentina de Ranicultores, ente encargado de mantener actualizado el listado de emprendimientos ranícolas en el país. Para el año 2001, existía una lista de 28 criadores registrados en Argentina y 18 socios con algún vínculo a la ranicultura (C. Riccomi¹ com. pers.).

En diciembre de 2004 se publica en el Boletín Oficial de la SAGPyA la Resolución N° 1314/2004 sobre las normas que regularán la Producción de Organismos Acuáticos Vivos en los emprendimientos/establecimientos que se dediquen a la actividad de acuicultura, basada en el expediente N° S01:0307535/2004 del registro de la SAGPyA y la Resolución N° 987/97 de la SAGPyA. Por otro lado, también en el año 2004 se crea el Registro Nacional de Establecimientos Ranicultores bajo la Resolución N° 636/2004 de la SAGPyA, basado en el expediente N° 13.124/2002 del registro del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, la Ley N° 3959 de Policía Sanitaria de los Animales, el Decreto N° 1585/96 (sustituido por su similar N° 680/2003).

A nivel provincial, por ejemplo en la Provincia de Santa Fe, recién en el año 1998 se resuelve crear los registros de criaderos de especies silvestres, tanto de autóctonas como exóticas en el ámbito en la Subsecretaría de Medio Ambiente y Ecología de la provincia. Dicha Resolución (N° 0074/98) se basa en el expediente N° 00101-0080180-1 del registro de Sistema de Información de Expedientes.

Cabe mencionar que no se implementó ningún programa de control para evitar escapes o liberaciones de los animales exóticos de los criaderos (Laufer *et al.* 2008). Tampoco se

¹ Ingeniera Agrónoma Claudia Riccomi. Coordinadora de Biología Pesquera y Acuicultura en la Secretaría de Medio Ambiente de la Provincia de Santa Fe.

estableció bajo ninguna regulación oficial el destino final de los ejemplares vivos que quedaban en los emprendimientos que cerraron, aunque es probable que en algunos casos las ranas hayan sido ó sean liberadas o simplemente abandonadas en las instalaciones, pudiendo ser ésta una de las fuentes que alimentan a las poblaciones de rana toro que han sido detectadas actualmente en silvestría.

Desde el año 2005 hasta ahora, se han reportado poblaciones asilvestradas de rana toro en numerosos humedales de Argentina y en las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Mendoza, Misiones, Salta y San Juan (Sanabria *et al.* 2005, 2011a, 2011b, Pereyra *et al.* 2006, Verniere 2006, Akmentis *et al.* 2009, Barrasso *et al.* 2009, Akmentis y Cardozo 2010, Nori *et al.* 2011), algunos de ellos lindantes o a escasos kilómetros de sitios donde funcionaron o funcionan establecimientos de ranicultura.

El seguimiento sobre dichas poblaciones es de suma importancia debido a que, aunque aún no se sabe si alguna especie de anfibio es resistente o inmune a la infección por *Bd*, numerosos estudios demuestran que este hongo infecta asintóticamente a algunas especies de anuros (Woodhams *et al.* 2007), entre ellos a la rana toro norteamericana (Daszak *et al.* 2004, Hanselmann *et al.* 2004).

Entre todas las especies de anfibios estudiadas hasta ahora, existe un continuo en relación a la respuesta que tienen a la infección por *Bd*. Mientras que algunas especies sufren rápidas declinaciones con un 100% de mortalidad en las poblaciones infectadas, llegando hasta la extinción, otras especies parecen llevar la infección con un mínimo, o no presentar ningún tipo de sintomatología (Berger *et al.* 1998, Daszak *et al.* 2004, Kilpatrick *et al.* 2010). En este sentido, Daszak *et al.* (2004) sugieren que la infección por *Bd* puede causar poca o nula mortalidad en poblaciones de rana toro y, en general, la mayoría de los individuos pueden crecer y reproducirse normalmente. Esta particularidad junto con su intensa comercialización y capacidad de comportarse como especie invasora, convierte a *L. catesbeianus* en un organismo reservorio y vector eficiente para la dispersión del *Bd* a nuevas regiones geográficas (Kupferberg 1997, Mazzoni *et al.* 2003, Daszak *et al.* 2004, Hanselmann *et al.* 2004, Weldon *et al.* 2004, Garner *et al.* 2006, Fisher y Garner 2007). Esta hipótesis está sustentada por estudios filogenéticos y por el patrón geográfico observado en la declinación de anfibios (Daszak *et al.* 1999, 2004, Morehouse *et al.* 2003).

El efecto negativo de la quitridiomycosis en los anfibios y la capacidad de la rana toro de actuar como vector efectivo y transmisor del hongo en casi cualquier parte del mundo, llevó a la Oficina Internacional de Epizootias (OIE) de la Organización Mundial de Sanidad Animal a incluir las infecciones por *Batrachochytrium dendrobatidis* y por ranavirus en la lista de enfermedades de declaración obligatoria cuando se comercia con especies de anfibios (<http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/oie-listed-diseases-2011/>). Además, la OIE incluyó en su Manual de Pruebas Diagnósticas para Animales Acuáticos 2011 (Manual of

Diagnostic Tests for Aquatic Animals 2011: <http://www.oie.int/en/international-standard-setting/aquatic-manual/access-online/>) los protocolos para diagnóstico de *Bd* y ranavirus (http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/aahm/2010/2.01.01_batracho.pdf).

Está claro que aún resta mucho por estudiar para determinar el rol que ha tenido y tiene la rana toro -y la comercialización de anfibios en general- en los brotes epidémicos de quitridiomycosis, tanto como vector de esta enfermedad, como por el efecto combinado de sus impactos como especie invasora responsable de la declinación global de anfibios.

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Como ya se mencionó, algunos autores consideran a la rana toro como una de las 100 especies invasoras más perjudiciales del mundo (Lowe *et al.* 2000). Esta afirmación se fundamenta en el efecto que esta especie tiene sobre las especies nativas y el ecosistema en general cuando es introducida en un sitio fuera de su área natural de distribución. Entre los efectos documentados podemos mencionar la extinción o eliminación de especies nativas por depredación y/o competencia, la interrupción de las redes tróficas, los cambios en la productividad primaria del ecosistema y los cambios en la formación del suelo (Kraus 2009).

Como se mencionara anteriormente, se ha propuesto que la rana toro presenta capacidad para actuar como vector de enfermedades y parásitos, principalmente de la enfermedad fúngica quitridiomycosis (Berger *et al.* 1998, Daszak *et al.* 1999, Mazzoni *et al.* 2003, Hanselmann *et al.* 2004, Garner *et al.* 2006, Kraus 2009), infectando a las especies nativas de anuros de los sitios donde es introducida.

Después de Brasil, Argentina es el país de América del Sur con mayor extensión geográfica invadida por la rana toro (Akmentis y Cardozo 2010) y, como ya se mencionó en el apartado anterior, en los últimos seis años se han registrado en Argentina numerosas poblaciones de rana toro asilvestradas y en creciente expansión, sumado a que los registros siguen en aumento a medida que se recorren nuevos sitios.

Teniendo en cuenta lo expuesto, en este capítulo se realiza una evaluación de la presencia de *Bd* en algunas de las poblaciones de rana toro de Argentina, para lo cual se han planteado los siguientes objetivos:

- Determinar la presencia de *Bd* en poblaciones de rana toro asilvestradas y de criadero en Argentina.
- Discutir la implicancia de la presencia de poblaciones de rana toro infectadas con *Bd* en la conservación de especies nativas.

METODOLOGIA

Se recopiló información sobre los criaderos y poblaciones asilvestradas de *Lithobates catesbeianus* distribuidas en Argentina. Para ello se relevaron datos de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación de la Nación (SAGPyA) y de Secretarías Provinciales y Municipales. Además, se realizaron búsquedas de datos en colecciones herpetológicas de Museos, se consultó la bibliografía publicada sobre la temática y se entrevistó a pobladores y personas relacionadas a organismos nacionales y provinciales.

En base a la información obtenida, se seleccionaron algunos de los sitios y se analizaron ejemplares de rana toro provenientes de varias provincias Argentinas (Anexo: Figura 11). Estos ejemplares correspondieron a individuos depositados en colecciones herpetológicas y de muestreos propios (Tabla 1).

Tabla 1. Origen de los ejemplares de *Lithobates catesbeianus* analizados para este trabajo.

Provincia	Localidad de origen de los ejemplares	Coordenadas	Institución depósito de la colección	Numero de colección	Tipo de población
Buenos Aires	9 de Julio	35° 29' 12,9'' S, 60° 54' 0,4'' O 35° 27' 12,1'' S, 60° 51' 57,2'' O 35° 30' 10,07'' S, 60° 57' 17,6'' O	Museo de Ciencias Naturales de La Plata de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata	A4949 al A4958	Asilvestrada
Córdoba	Agua de las Piedras	30° 48' 46,2'' S, 64° 12' 57,9'' O	Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de la Universidad Nacional de Córdoba	MZUC IV00108 al IV00110 (lote de larvas)	Asilvestrada
San Juan	Puchuzúm	31° 20' S, 69° 50' O	Grupo de Ecología y Conservación de Regiones Áridas		Asilvestrada
Santa Fe	Monte Vera	31° 30' S, 60° 40' O	Museo Provincial de Ciencias Naturales Florentino Ameghino	MFA-ZV 376, MFA-ZV 724 al 731	Criadero

Los ejemplares de la Provincia de Buenos Aires fueron solicitados al Museo de La Plata (Tabla 1). Los mismos pertenecen a una población asilvestrada de rana toro que habita en el Departamento 9 de Julio, a unos 250km al suroeste de la ciudad de Buenos Aires. El clima de la zona es húmedo, templado, con grandes pastizales de lagunas permanentes, con una importante explotación agrícola-ganadera desde hace aproximadamente 250 años (Barrasso *et al.* 2009). Los ejemplares fueron colectados en lagunas permanentes seminaturales, en cunetas dentro de la ciudad y en una charca natural ubicada en una zona rural (Barrasso *et al.* 2009).

En la Provincia de Córdoba, los ejemplares fueron colectados entre diciembre de 2007 y marzo de 2008 y provienen de una población asilvestrada que habita en Agua de las Piedras, localidad ubicada a 65km al norte de la ciudad de Córdoba (Akmentis *et al.* 2009) (Tabla 1). El paisaje dominante del área es un sistema de grandes extensiones de terrenos cultivados con pequeños parches de bosque nativo secundario dedicados principalmente a la cría extensiva de ganado o actividades cinegéticas de caza menor.

Por otro lado, se realizaron campañas de muestreo en la Provincia de Misiones, en los sitios donde Pereyra *et al.* (2006) registraron poblaciones asilvestradas de rana toro. En el mes de diciembre de 2009 se efectuaron búsquedas en la localidad de El Soberbio, Departamento Guaraní (27° 27' S, 54° 11' O; 184msnm) y en la Reserva de Biosfera Yabotí: Parque Provincial Saltos del Moconá, Departamento San Pedro, (27° 09' S, 53° 53' O; \cong 250msnm). Ambos sitios están ubicados a una distancia de alrededor de 300km al sureste de la ciudad de Posadas. El clima es subtropical sin estación seca, con altos registros pluviométricos que son resultado de los vientos húmedos provenientes del Océano Atlántico. La humedad media relativa varía del 75% al 90% con importantes rocíos nocturnos y las temperaturas oscilan entre los 16°C (promedio para la estación invernal) y 25°C (promedio para los meses de enero y febrero), alcanzando temperaturas de 40°C durante el día en verano.

Los ejemplares de la Provincia de San Juan provienen de la colección del Grupo de Ecología y Conservación de Regiones Áridas (ECRA) y de muestreos propios, realizados durante los meses de febrero de 2008 y febrero de 2010 (Tabla 1). Pertenecen a diferentes poblaciones que habitan en las inmediaciones de la localidad de Puchuzún, en el Departamento Calingasta, a 120km al noroeste de la ciudad de San Juan. El sitio se caracteriza por ser un ambiente precordillerano, con temperaturas en enero que no superan los 22°C, dando lugar a un desierto relativamente frío (Poblete y Mineti 1999). El río Castaño Viejo, hábitat de los ejemplares colectados, es un río de suelo predominantemente pedregoso (canto rodado) y limoso, en el que se forman meandros que generan ambientes pantanosos donde se evidencia gran descomposición de materia orgánica (Sanabria *et al.* 2005).

Para la Provincia de Santa Fe se analizaron ejemplares depositados en el Museo Provincial de Ciencias Naturales 'Florentino Ameghino' (Tabla 1). Los mismos fueron donados al museo en el año 1993 y provienen de un criadero que funcionaba en la localidad de Monte Vera, unos 14Km al norte de la capital provincial, ciudad de Santa Fe de la Vera Cruz. El área posee una temperatura anual media de 18°C, con máximas de 44°C y mínimas de -7°C y precipitación anual promedio de 1000mm.

Todos los ejemplares fueron procesados siguiendo diversas técnicas ya utilizadas para la identificación de la quitridiomycosis como observación en lupa para las larvas (Berger *et al.* 1999), análisis histológicos para larvas, juveniles y adultos (siguiendo a Berger *et al.* 1999 y Pessier *et al.* 1999) y análisis moleculares para larvas, juveniles y adultos (siguiendo a Boyle *et*

al. 2004) (ver detalles de cada uno de los procedimientos en el apartado Metodología del Capítulo II).

RESULTADOS

Registros de *Lithobates catesbeianus* en el país

El registro de los establecimientos de acuicultura en Argentina está disperso en las bases de datos de las distintas Secretarías a nivel Nacional, Provincial y Municipal (Medio Ambiente, Fauna, Pesca y Acuicultura).

En el caso de establecimientos de acuicultura con cultivo de rana, se cuenta con datos de publicaciones (Luchini 1995) y comunicaciones personales de la Dra. L. Luchini (Directora de Acuicultura, de, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación) y la Ing. Agr. C. Riccomi (Coordinadora de Biología Pesquera y Acuicultura en la Secretaria de Medio Ambiente de la Provincia de Santa Fe) (Tabla 2, Figura 1).

Tabla 2. Localidad y coordenadas de los establecimientos de ranicultura en Argentina. Los resaltados en negrita son los que aún se encuentran en funcionamiento. Fuente: L. Luchini y C. Riccomi com. pers

Provincia	Localidad	Longitud (O)	Latitud (S)
Buenos Aires	Junín	60° 57' 32''	34° 35' 6''
Buenos Aires	Tigre	58° 35' 48''	34° 25' 32''
Buenos Aires	Arrecife	60° 07'	34° 04'
Buenos Aires	San Antonio de Areco	59° 28' 0''	34° 15'
Buenos Aires	San Miguel del Monte	58° 48' 0''	35° 27'
Buenos Aires	Claypole	58° 19' 59''	34° 48'
Buenos Aires	Mercedes	59° 26' 03''	34° 39' 15''
Buenos Aires	La Plata	58° 13' 39''	34° 56' 30''
Buenos Aires	Marcos Paz	58° 50' 44''	34° 46' 54''
Buenos Aires	Bahía Blanca	62° 19' 55''	38° 14' 27''
Córdoba	Gral. Dehesa	63° 46' 0''	32° 43' 59''
Córdoba	Oncativo	63° 40' 0''	31° 55'
Córdoba	Oliva	63° 34' 0''	32° 03'
Córdoba	Coronel Baigorria	64° 20' 41''	32° 50' 11''
Córdoba	Villa María	63° 11'	32° 22'
Córdoba	Despeñaderos	64° 17'	31° 49'
Córdoba	Córdoba	64° 10'	31° 23'
Córdoba	Río Tercero	64° 06'	32° 10'
Córdoba	Pozo del Molle	62° 55'	32° 01'
Córdoba	Carlos Paz	64° 30'	31° 25'
Córdoba	Balnearia	62° 40'	31°
Córdoba	Alicia	62° 27'	31° 56'

Provincia	Localidad	Longitud (O)	Latitud (S)
Entre Ríos	Crespo	60° 19' 0''	32° 01' 59''
Entre Ríos	Villaguay	58° 28' 0''	31° 21'
Entre Ríos	Gualeguaychú	58° 30' 51''	33° 0' 37''
Entre Ríos	Ramírez	60° 11'	32° 10'
Misiones	San Javier	55° 07' 59''	27° 52' 59''
Salta	Rosario de la Frontera	64° 58'	25° 48'
Santa Fe	Santa Fe	60° 41' 59''	31° 32' 27''
Santa Fe	Andino	60° 52' 59''	32° 40'
Santa Fe	Luis Palacios	60° 54'	32° 46' 59''
Santiago del Estero	Parque Industrial	64° 15'	27° 43' 59''

Los datos de las poblaciones asilvestradas provienen de estudios que han sido publicados en diversas revistas nacionales e internacionales y en sitios de Internet y se dispone de datos de Sanabria *et al.* (2005, 2011a, 2011b), Pereyra *et al.* (2006), Verniere (2006), Akmentis *et al.* (2009), Barrasso *et al.* (2009), Akmentis y Cardozo (2010) y Nori *et al.* (2011) (Tabla 3, Figura 1).

Tabla 3. Coordenadas de los registros de poblaciones asilvestradas de rana toro en Argentina. En la última columna se cita la fuente de la que se obtuvo el dato.

Provincia	Longitud (O)	Latitud (S)	Fuente
Buenos Aires	60° 51'	35° 27'	Barrasso <i>et al.</i> 2009
Buenos Aires	62° 19' 55''	38° 14' 27''	Verniere 2006
Córdoba	64° 12' 57''	30° 48' 46''	Akmentis <i>et al.</i> 2009
Córdoba	65° 08'	31° 55'	Nori <i>et al.</i> 2011
Mendoza	68° 59' 09''	33° 41' 11''	Sanabria <i>et al.</i> 2011b
Misiones	53° 54' 05''	27° 09' 11''	Pereyra <i>et al.</i> 2006
Misiones	53° 53' 25''	27° 09' 21''	Pereyra <i>et al.</i> 2006
Misiones	54° 11' 42''	27° 27' 34''	Pereyra <i>et al.</i> 2006
Salta	65° 10'	26° 13'	Akmentis y Cardozo 2010
San Juan	69° 50'	31° 20'	Sanabria <i>et al.</i> 2005
San Juan	69° 10'	31° 55'	Sanabria <i>et al.</i> 2011a

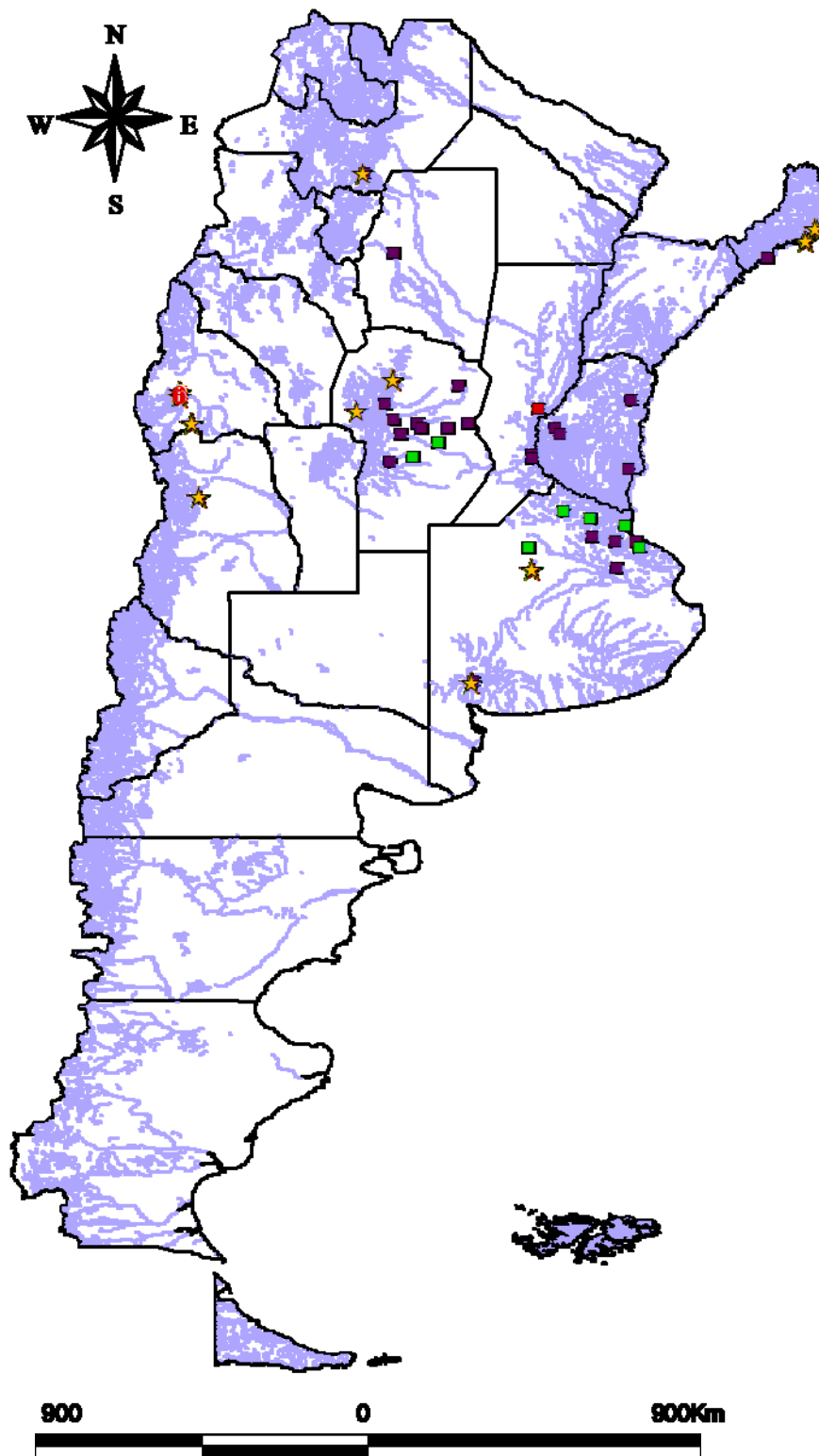


Figura 1. Ubicación de los criaderos registrados hasta el año 2001. (■): criaderos registrados fuera de funcionamiento; (■): criaderos en actual funcionamiento; (■): criadero con registro de *Bd* y (★): poblaciones asilvestradas de rana toro en Argentina. Fuente: L. Luchini y C. Riccomi com. pers.

Presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* en la rana toro

Para la evaluación de presencia de *Bd*, se analizaron un total de 88 ejemplares de *L. catesbeianus* provenientes de poblaciones asilvestradas y de criadero detectadas en cuatro de las cinco provincias relevadas (Buenos Aires, Córdoba, San Juan y Santa Fe) (Tabla 4).

Se registraron positivos para *Bd* en ejemplares asilvestrados de la Provincia de San Juan y de colección de la Provincia de Santa Fe, pero no se detectaron positivos en los ejemplares estudiados procedentes de las provincias de Buenos Aires y Córdoba (Tabla 4).

Tabla 4. Lista de ejemplares analizados de *L. catesbeianus* por provincia y técnica de análisis. *Bd*: número de ejemplares infectados con *Bd* por edad. L: larva, J: juvenil, A: adulto. El tamaño de los ejemplares se muestra en mm (promedio±desvío estándar). *nd*: no se cuenta con datos precisos.

Provincia	Estadio	Técnica	N	<i>Bd</i>	Tamaños de los ejemplares
Buenos Aires	J, A	Histología	10	No	<i>nd</i>
Córdoba	L, J	Lupa/Histología	14	No	<i>nd</i>
Misiones		-	-	-	
San Juan	L, J, A	Lupa/Histología/PCR	55	A: 1 J: 8 L: 3	A:144±20 J:73,2±21 L:113,5±34
Santa Fe	J	Histología	9	J: 5	J:72,5±15
Total			88	17	

Las larvas provenientes de la Provincia de Córdoba presentaron las estructuras bucales normalmente pigmentadas (Figura 2) y en los cortes histológicos de los juveniles de Córdoba y adultos de Buenos Aires no se evidenciaron signos de infección (Figura 3).



Figura 2. Detalle de la coloración de las estructuras bucales de una larva de *L. catesbeianus* proveniente de una población asilvestrada de Córdoba.

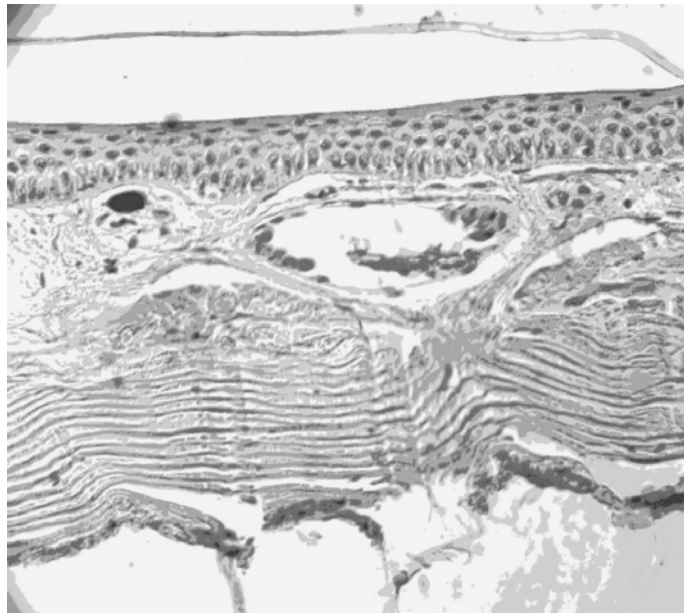


Figura 3. Corte histológico de un parche de las ancas de un juvenil de *L. catesbeianus* proveniente de una población asilvestrada detectada en la Provincia de Buenos Aires.

Durante la campaña en la Provincia de Misiones (diciembre de 2009) se detectaron machos de rana toro cantando en un pequeño bañado densamente poblado con macrófitas arraigadas en la localidad El Soberbio (Anexo: Figura 11), en el mismo sitio donde Pereyra *et al.* (2006) registraron estos anuros en el año 2005. La presencia de esta población asilvestrada fue confirmada mediante entrevistas a pobladores locales. Sin embargo, no se pudo capturar ningún ejemplar para los análisis de determinación de infección por *Bd*. Por otro lado, también durante la campaña en Misiones, en la Reserva Provincial Saltos del Moconá no se detectaron ejemplares de rana toro [aunque Pereyra *et al.* (2006) tienen registros de este vertebrado en el sitio] ni por escuchas ni por entrevistas a los guardaparques del lugar.

Respecto a los individuos colectados en la Provincia de San Juan y analizados por técnicas moleculares (Anexo: Figura 12), se determinó una prevalencia del 27,27% de *Bd* (Tabla 4). De la totalidad de ejemplares positivos para *Bd*, 10 correspondieron a muestras tomadas en febrero del año 2008 y 2 muestras tomadas en febrero del año 2010. Tres de los ejemplares portadores del hongo fueron larvas, ocho fueron juveniles y uno, un macho adulto. Dos de los ejemplares presentaban manchas oscuras con algunas ulceraciones en la región ventral del abdomen (Figura 4) pero resultaron negativos para *Bd*.

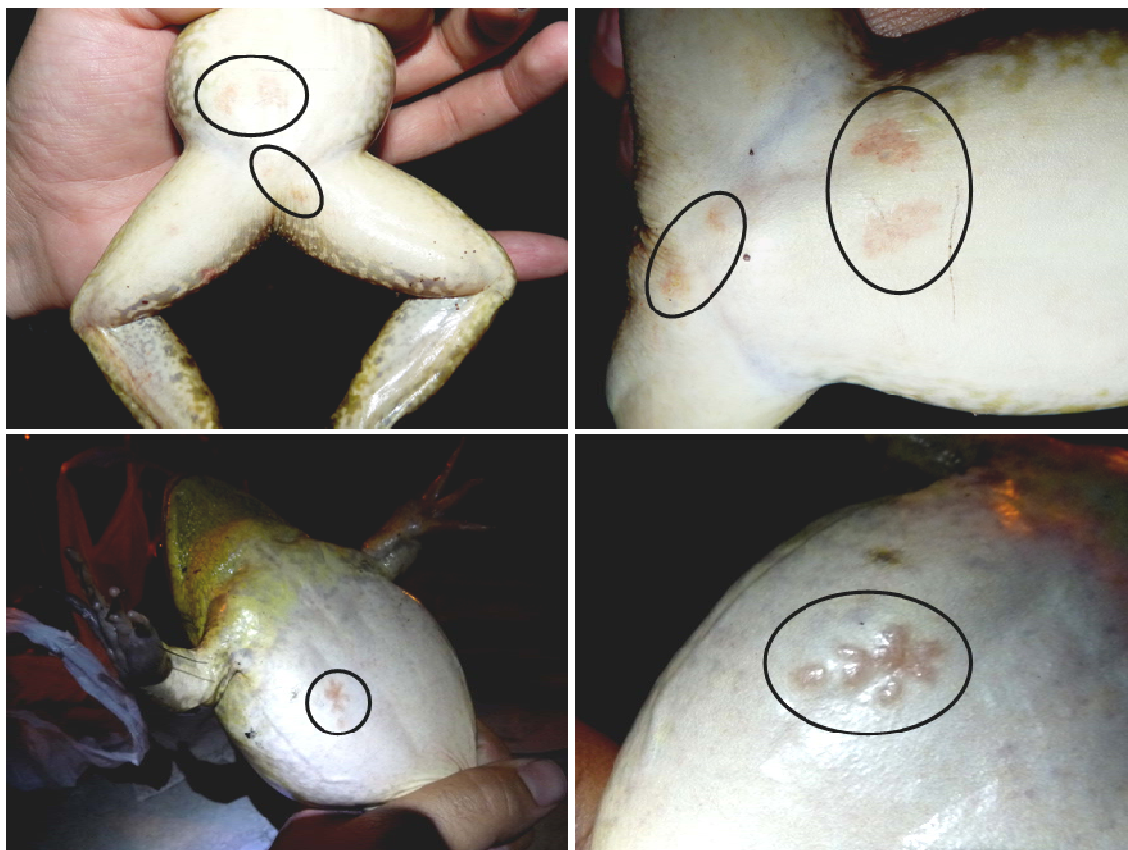


Figura 4. Ejemplares de *L. catesbeianus* con manchas y ulceraciones en la región ventral del abdomen, colectados en la zona de pantano del río Castaño (Puchuzúm, Provincia de San Juan).

Por otro lado, de los ejemplares provenientes del criadero de la Provincia de Santa Fe, el examen histológico reveló una prevalencia de *Bd* del 55,5% (Tabla 4). Los cortes de ejemplares infectados presentaron zoosporangios en diferentes estadios de desarrollo, observándose algunos individuos con los esporangios con las papilas de descarga orientadas hacia la superficie de la piel (Figura 5a, 5b y 5c). Sin embargo, estos individuos no mostraban signos de desarrollo de la enfermedad como hiperqueratosis y/o hiperplasia.

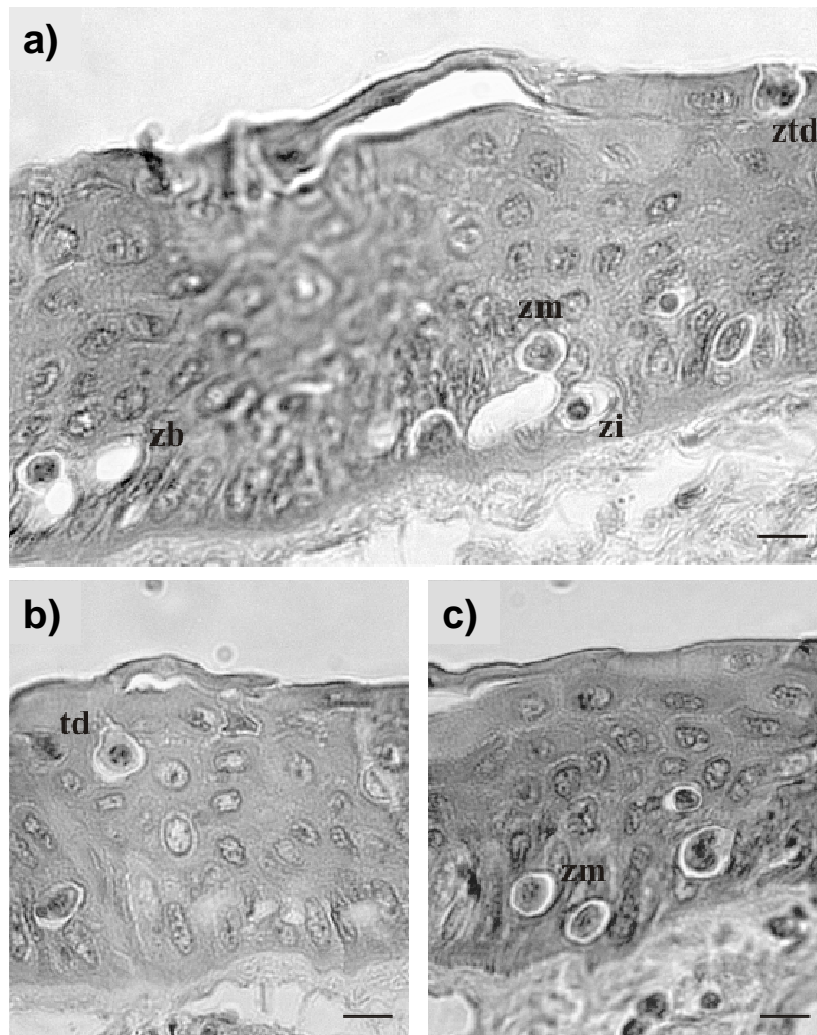


Figura 5. Sección de la piel de *L. catesbeianus* de un criadero de la Provincia de Santa Fe: a) zoosporangios en diferente estadio de desarrollo: zoosporangio inmaduro (zi), zoosporangio maduro (zm), zoosporangio vacío (zv) y zoosporangio maduro proyectando el tubo de descarga (ztd); b) detalle de un zoosporangio maduro desarrollando el tubo de descarga (td) y orientándose hacia la superficie del epitelio; c) zoosporangio maduro (mz). Escala=12 μ m.

DISCUSION

El consumo de carne de rana es una costumbre ancestral y tradicional en muchas culturas alrededor del mundo (Rodríguez 2007). En China, la carne de rana es considerada una exquisitez desde hace más de 40 siglos. En la Grecia Clásica, se servía como fino manjar en conmemoraciones de la más selecta sociedad. Los emperadores aztecas comían rana con salsa picante de pimienta durante los banquetes festivos. Sin embargo, en occidente, en los últimos siglos la rana fue calificada como “el pescado de los pobres” ya que se les atribuye a los gitanos la costumbre de incluirla en las recetas. Más recientemente, la carne de estos anuros fue ganando lugar nuevamente y en países como España y Francia se comenzó a consumir como un plato gourmet (Rodríguez 2007).

En el año 2001, la Organización de Alimentos y Agricultura de las Naciones Unidas completó un análisis sobre el comercio internacional de las ancas de rana (Teixeira *et al.* 2001). El estudio reveló que el 95% de la totalidad del suministro de ancas de rana y otras partes de la anatomía de estos vertebrados provienen de ejemplares en silvestría siendo 11 especies de ranas las que dominan el mercado y que, en el año 1998, más de 30 países estuvieron envueltos en el comercio de ancas de rana, totalizando un valor estimado de 48,7 millones de dólares (Picco y Collins 2008),

En nuestro país, el consumo de carne de rana es una costumbre arraigada sobre todo en zonas del litoral fluvial (Luchini 2005), donde popularmente se caza la “rana criolla” o “ayui” (*Leptodactylus latrans* y/o *L. chaquensis*) para su consumo bajo diferentes recetas tradicionales, siendo la especial consistencia y sabor de su carne lo que de a poco la llevaron a las mesas más exigentes, además de sus excelentes características alimenticias (Barbado 1992, Rodríguez 2007). La posibilidad de desarrollar un mercado nacional, para el consumo de rana como un plato “delicado” (*delicatesen*) y por lo tanto, de elevado precio, junto con la necesidad de producciones alternativas de ‘aparente’ bajo costo de inversión, motivó el auge durante la década del ‘80 de los ranarios argentinos para la producción en cautiverio de la especie exótica *L. catesbeianus* (Luchini 1995, Luchini y Panne Huidoro 2008).

Origen de la ranicultura en Argentina y presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* en criaderos

Las ranas toro son parte de un creciente y expansivo tráfico de animales empleados como alimento entre diversos países de América del Sur y entre América del Sur y América del Norte (Mazzoni *et al.* 2003, Hanselmann *et al.* 2004). Debido a que la producción de rana toro en Argentina comenzó con anterioridad a la implementación de una legislación reguladora de dicha actividad y tránsito de esta especie, la procedencia y estado sanitario de los ejemplares con los

que comenzaron a funcionar los criaderos son inciertos. Sin embargo, se supone que los planteles iniciales utilizados para la cría aquí en Argentina provienen de Brasil (Luchini 1995), país en el que las fronteras son más abiertas (L. Luchini com. pers.) y donde esta actividad ya estaba desarrollada para la década del '80. En Uruguay por ejemplo, uno de los criaderos que comenzó a funcionar en 1998, comenzó a partir de un stock de ranas originario de Brasil (Mazzoni *et al.* 2003). Las granjas brasileras originariamente importaron más de 300 parejas de ranas desde Canadá para abastecer a los primeros emprendimientos de América del Sur hace unos 35 años atrás (Mazzoni *et al.* 2003). Probablemente, éste sea también el origen del linaje de los ejemplares en Argentina.

En cuanto al 'tránsito federal' de rana toro en nuestro país, a principios de la década del '90 el Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA) emitió la primera reglamentación destinada a la faena de productos provenientes de la ranicultura (especie de frigoríficos que hacían las veces de acopiadores), estableciéndose en ese momento dos plantas habilitadas, una en la Provincia de Santa Fe y otra en la Provincia de Buenos Aires (Luchini 1995) y en las cuales, el control sobre el manejo y sanidad de los animales no estaba estrictamente reglamentado. Teniendo en cuenta esto, Akmentis y Cardozo (2010) y Sanabria *et al.* (2011a) sugieren implementar un control más efectivo sobre los programas de cría en cautiverio de especies exóticas en Argentina. A pesar de las sugerencias de estos investigadores y de que existen registros de numerosas enfermedades emergentes que atacan a los anfibios y se están dispersando con el comercio de fauna (*e.g.* quitridiomycosis y ranavirus; Fisher y Garner 2007), las agencias del gobierno de nuestro país aún no han implementado protocolos adecuados para su detección en los ejemplares comercializados a nivel nacional e internacional.

Debido a la falta de control y registro sobre transmisión de enfermedades, no existen datos confiables sobre la salud de las ranas de los criaderos. Por ejemplo, alrededor del año 2005, se produjo una importante mortalidad en el ranario de General Dehesa (Provincia de Córdoba), uno de los más importantes del país, actualmente en funcionamiento. Lo mismo sucedió en las instalaciones que funcionaban en la localidad de Despeñaderos (Provincia de Córdoba), establecimiento que se vio obligado a cerrar por una mortandad de casi la totalidad de los ejemplares. Las causas de estas mortandades son desconocidas (A. Laves com. pers.). También existieron mortalidades masivas en la planta santafesina de la localidad de Monte Vera habilitada para el tránsito federal, aparentemente por causa de una bacteria (no identificada) que afecta negativamente a las ranas (L. Luchini com. pers.). Es interesante destacar que para ese mismo ranario se registró quitridiomycosis en los ejemplares que fueron donados en 1993 al Museo Provincial de Ciencias Naturales Florentino Ameghino (Ghirardi *et al.* 2011). De hecho, la infección debió tener una incidencia elevada en el establecimiento ya que más de la mitad de los ejemplares analizados se encontraron infectados, teniendo en cuenta que la evaluación se realizó mediante histología, técnica que puede implicar un alto porcentaje de falsos negativos

(Kriger *et al.* 2006). En el ranario de Las Bidas (Provincia de Buenos Aires), que abastecía al frigorífico con el mismo nombre y era el segundo establecimiento habilitado para tránsito federal, las ranas tuvieron un brote de pata roja ocasionado por bacterias del género *Aeromonas* que produjo mortandad en toda la producción, lo que desembocó en el cierre del establecimiento (L. Luchini com. pers.). Se desconoce si estos animales también estaban infectados con el hongo quitridial.

Poblaciones asilvestradas de rana toro en Argentina

Lamentablemente, al no contar con registros adecuados y monitoreos continuos de los criaderos de ranas, se desconoce el destino de los individuos de esta especie luego del abandono y desarticulación de los criaderos que han sido cerrados. Sin embargo, podemos suponer que algunos productores vendieron sus animales a otros ranarios en funcionamiento, otros al exterior, otros los dejaron en las instalaciones abandonadas y algunos liberaron deliberadamente las ranas toro en los cuerpos de agua cercanos. En base a esto, podría asumirse que el origen de las poblaciones asilvestradas de rana toro en Argentina es diverso, y en la mayoría de los casos no se tiene certeza de cómo se produjo la introducción en los ambientes naturales.

Para la población asilvestrada encontrada en la Provincia de Buenos Aires, Barrasso *et al.* (2009) mencionan que entre los años 1989 y 1991 se instaló un criadero de rana toro en la localidad de 9 de Julio (Partido 9 de Julio, Provincia de Buenos Aires), localizado sobre la Ruta Nacional N° 5, a pocos kilómetros de la intersección con la Ruta Provincial N° 65 ($\cong 35^{\circ} 27' S$, $60^{\circ} 51' O$; 79msnm). En el verano de 2001, y en correspondencia con intensas precipitaciones ocurridas en el mes de marzo (Ventimiglia *et al.* 2003), se detectó la presencia de ranas toro asilvestradas, pudiendo observarse individuos en las piletas de domicilios particulares en el área urbana, o en cunetas de caminos rurales. Se presume que con las intensas lluvias rebalsaron las piletas del criadero y los ejemplares escaparon a los cuerpos de agua cercanos (Barrasso *et al.* 2009).

Según las consultas realizadas por Akmentis *et al.* (2009) a los pobladores de la zona, las ranas toro de la población asilvestrada de la Provincia de Córdoba (Agua de las Piedras), tendrían su origen en un establecimiento de acuicultura no declarado que funcionó en la localidad de Sarmiento (ubicada a 4Km al noreste de Agua de las Piedras). Además, según los registros de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos de la República Argentina, en la Provincia de Córdoba, durante la década del '90 se establecieron criaderos de rana toro en Villa María, Río Tercero, Gral. Dehesa, Oncativo y Olivia (C. Riccomi com. pers.). Todas estas localidades están situadas alrededor de unos 300Km al sur de la anteriormente mencionada localidad de Agua de las Piedras, por lo que es probable que la población

asilvestrada allí provenga del establecimiento para ranicultura no registrado que los pobladores locales mencionan que funcionó en la localidad de Sarmiento.

En la Provincia de Misiones, el origen de las poblaciones asilvestradas de rana toro también es desconocido y difícil de inferir, ya que en el área de registro no existen criaderos declarados al Ministerio de Ecología, Recursos Naturales Renovables y Turismo de la Provincia (Pereyra *et al.* 2006). Sin embargo, según datos provenientes del Comité Ejecutivo de Desarrollo e Innovación Tecnológica de la Provincia de Misiones, a fines de la década del '80 los productores de la zona de San Javier y Aristóbulo del Valle realizaron el cultivo de rana toro; luego, por falta de demanda, debieron suspenderlo (Lezcano y Faifer 2009). Por otro lado, la Dirección de Industria Alimentaria de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos de la República Argentina, destaca al criadero "San Javier" como uno de los más productivos de la década del '90 (De Bernardi y Alderete 1999). El mismo se encontraba en el departamento San Javier, a unos 220Km de la localidad de El Soberbio (lugar de registro de la población asilvestrada; Pereyra *et al.* 2006).

En la Provincia de San Juan, según informaron los pobladores del Departamento de Calingasta a Sanabria *et al.* (2005), las poblaciones que habitan en las márgenes y canales del Río Castaño Viejo se establecieron en el lugar por accidente, debido al vuelco de un vehículo que transportaba ejemplares para una granja de cría existente en la margen del Río Castaño Viejo (aproximadamente a 5Km al norte del sitio donde se encuentra la población asilvestrada más importante). Por otro lado, los mismos pobladores afirman que cuando el río presentaba crecidas extraordinarias, el agua ingresaba a los piletones de cría, éstos se rebalsaban y se escapaban los ejemplares hacia el cauce del río (Sanabria *et al.* 2005), pudiendo resultar en reclutamientos continuos de individuos a la población asilvestrada.

En la Provincia de Santa Fe, según datos de registros de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos de la República Argentina, además del criadero de la localidad de Monte Vera, en la década del '90 funcionaban ranarios en las localidades de Luís Palacios y Andino (aproximadamente a 160Km y 130Km al sureste de la ciudad de Santa Fe respectivamente) (L. Luchini com. pers.). También en la Provincia de Entre Ríos funcionaron, durante la década del '90, establecimientos de cría de rana toro en las localidades de Crespo, Villaguay y Gualaguaychú (C. Riccomi com. pers.). No se han reportado poblaciones asilvestradas de rana toro en ninguno de estos sitios o sus cercanías, pero esto puede deberse a una escasa búsqueda activa y/o desconocimiento para reconocer la especie y sus características por los pobladores locales.

Por otro lado, cabe destacar nuevamente que las poblaciones asilvestradas de rana toro se encuentran en un amplio rango del país (Sanabria *et al.* 2005, 2011a, 2011b, Pereyra *et al.* 2006, Verniere 2006, Akmentis *et al.* 2009, Barrasso *et al.* 2009, Akmentis y Cardozo 2010, Nori *et al.* 2011), y que continúan apareciendo nuevos registros a medida que se recorren

nuevos sitios. Recientemente se produjo un nuevo registro en la Provincia de Córdoba, sobre el río Los Sauces, 3Km al norte de la localidad de Villa Dolores (31° 55' S, 65° 08' O; 540msnm) y 158Km al suroeste de Aguas de las Piedras (Nori *et al.* 2011). En este caso se observaron abundantes larvas, metamorfos y adultos, por lo que se la considera una población bien establecida (Nori *et al.* 2011).

Otro sitio donde se ha detectado recientemente una población asilvestrada es en la localidad de La Candelaria (Departamento Rosario de la Frontera), en la Provincia de Salta (26° 13' S, 65° 10' O; 1000msnm) (Akmentis y Cardozo 2010). Los muestreos se desarrollaron en una instalación de acuicultura abandonada ubicada en una granja agrícola. La misma posee una pileta artificial permanente y canales de riego, en los que se observaron y colectaron ejemplares adultos, subadultos y se observaron altas densidades de larvas de *L. catesbeianus* (Akmentis y Cardozo 2010).

Por otro lado, Sanabria *et al.* (2011a) publicaron el registro de una nueva población de rana toro para la Provincia de San Juan, en un área agrícola en Cerro Blanco (31° 55' S, 69° 10' O; 650msnm; Departamento Zonda), 130Km al este de Calingasta, en un hábitat más xérico que el que habita la población asilvestrada anteriormente registrada en esa provincia (Sanabria *et al.* 2011a). En este caso, los ejemplares de *L. catesbeianus* fueron encontrados utilizando estanques artificiales para la reproducción y desarrollo de las larvas. Los estanques reciben el agua de un sistema de riego que conecta todas las tierras agrícolas en la región y los renacuajos utilizan los canales de riego para moverse entre los estanques, por lo que la dispersión de los ejemplares y expansión de esta población se encontraría facilitada y favorecida por la infraestructura de riego artificial en esta región árida, al igual que lo registraron Akmentis y Cardozo (2010) para la Provincia de Córdoba.

El último registro para el país incluye una población asilvestrada en la Provincia de Mendoza (33° 41' 11'' S, 68° 59' 09'' O; 920msnm) (Sanabria *et al.* 2011b). Esta región ha sido modificada profundamente para el desarrollo de la agricultura, con sistemas de riego compuestos por canales que conectan los ríos y lagunas naturales a través de toda la región. Los autores registraron la presencia de *L. catesbeianus* reproduciéndose activamente en lagunas artificiales, así como utilizando de los canales de irrigación para la dispersión de adultos y larvas entre los cuerpos de agua (Sanabria *et al.* 2011b).

Posible impacto de las poblaciones asilvestradas de *Lithobates catesbeianus*

El efecto de *L. catesbeianus* en los ecosistemas donde es introducida fuera de su rango nativo tiene múltiples facetas, ya que una vez que coloniza un hábitat sus efectos en las comunidades de los ambientes acuáticos son innumerables y perduran a largo plazo (Bury y Luckenbach 1976, Tood 2001, New South Wales National Parks and Wildlife Service 2002). Las

poblaciones asilvestradas de esta especie registradas para Argentina incluyen en su dieta desde moluscos y artrópodos hasta pequeños vertebrados como peces, anfibios, reptiles y mamíferos (e.g. Akmentis *et al.* 2009, Barrasso *et al.* 2009, Sanabria *et al.* 2011a). Por lo tanto, al igual que lo observado en otras regiones del planeta, el impacto negativo sobre las poblaciones de anuros nativos va, desde la competencia por los recursos hasta la depredación directa (Boone *et al.* 2004, Laufer *et al.* 2008).

Según proponen Sanabria *et al.* (2005) la población asilvestrada de rana toro de Calingasta (Provincia de San Juan) pudo haber tenido un impacto negativo sobre dos especies nativas de anuros (*Rhinella arenarum* y *Leptodactylus latrans*), cuyos adultos ya no se registran en la zona donde habita la rana toro desde hace unos 5 años. Según afirman los autores, en recorridos realizados en la zona de introducción de *L. catesbeianus* en plena época reproductiva (enero a marzo de 2004), no se registraron larvas ni adultos de otra especie de anuro más que los de rana toro. Este dato se ve reforzado por las observaciones de la dieta de ejemplares de esta población en los que se detectaron anuros entre sus contenidos gastrointestinales (Sanabria y Quiroga 2010).

Respecto a la población cordobesa mencionada anteriormente, no pudieron comprobarse eventos de depredación sobre anfibios autóctonos, aunque sí se registró canibalismo (Akmentis *et al.* 2009). Además, los autores observaron larvas y adultos de *R. arenarum* en varias de las charcas y escucharon cantos de *Hypsiboas cordobae* en las aguadas en las que fueron colectados los ejemplares de rana toro (M. Akmentis com. pers.). Sin embargo, los muestreos de este estudio se realizaron muy temprano (septiembre) o tarde (marzo-abril) respecto al período de mayor actividad de las especies de la zona, por lo que no se puede evaluar correctamente el posible impacto de *L. catesbeianus* sobre los anfibios nativos (M. Akmentis com. pers.). Cabe mencionar que en Provincia de Buenos Aires (Partido 9 de Julio) la población de rana toro también convive con las dos especies mencionadas en San Juan como afectadas por la presencia de este anuro exótico (*R. arenarum* y *L. latrans*) y además, se han observado ejemplares de *Pseudis minutus*, *Hypsiboas pulchellus* y *Pseudopaludicola falcipes* en las mismas charcas donde habita *L. catesbeianus* (Barrasso *et al.* 2009).

En Uruguay, país vecino y faunísticamente relacionado, sucede algo similar a lo registrado para la Provincia de San Juan, pero con la especie *H. pulchellus*. En un trabajo presentado por Laufer *et al.* (2008) se comparan sitios con y sin invasión de rana toro. Los charcos con invasión presentaron ausencia de larvas de *H. pulchellus* y reportaron que las larvas de *L. catesbeianus* representan la mayor fracción de biomasa del total de vertebrados que componen el cuerpo de agua (Laufer *et al.* 2008). Sin embargo, las ranas toro coexisten con muchas especies de anfibios al mismo tiempo que son depredadas directamente o compiten con ellas (McAlpine y Dilworth 1989, Hirai 2004), incluso existen reportes de depredación de juveniles de esta especie por parte de adultos de la rana criolla *L. ocellatus* (Texeira da Silva y

Ribeiro Filho 2009), sugiriendo esto que la depredación y la competencia no son las únicas explicaciones para las declinaciones asociadas a la introducción de rana toro (Garner *et al.* 2006).

En relación al impacto negativo de *L. catesbeianus* por transmisión de enfermedades, a pesar de que no se conoce si alguna especie de anfibio es resistente completamente a la infección por el quitridio (Kilpatrick *et al.* 2010), datos experimentales sugieren que las ranas toro están entre las especies que son capaces de presentar infección con *Bd* sin tener progresión de signos clínicos o muerte (Hanselmann *et al.* 2004, Garner *et al.* 2006). A pesar de que aún no se sabe si el nivel de infección por *Bd* que alcanzan las ranas toro es suficiente para transmitir este patógeno de un individuo a otro, la presencia de esporangios completamente formados en muchos de los ejemplares con signos positivos para *Bd* sugiere que es posible su transmisión (Daszak *et al.* 2004).

Según Hanselmann *et al.* (2004) hay dos factores que pueden aumentar el rol de las ranas toro como vectores de *Bd*. Por un lado, la reproducción continua y en alta tasa característica de la especie, y que ha también sido observada en poblaciones introducidas y asilvestradas. Por otro lado, y teniendo en cuenta que *Bd* puede vivir como saprótrofo en materia orgánica flotante en el agua o en cuerpos de agua fuera de su hospedador, una vez que comienza la infección en las ranas toro, el hongo puede ser transportado a otras charcas mediante otros vectores, fuera del rango de la población de rana toro (Hanselmann *et al.* 2004).

Por otro lado, y haciendo referencia a la hipótesis de “competencia mediada por parásitos” (Holt y Lawton 1994, McCallum y Dobson 1995, Hudson y Greenman 1998), se propone que este tipo de interacción ocurre cuando dos especies simpátricas poseen un mismo parásito y la especie menos susceptible “aprovecha” la diferencia del impacto de la susceptibilidad sobre la otra y resulta ser una especie competitivamente favorecida. Por ejemplo, en algunos casos, la competencia mediada por parásitos lleva a que el hospedador menos susceptible conduzca a la extinción del hospedador más susceptible (Daszak *et al.* 2004). En áreas donde habitan en simpatria anfibios nativos susceptibles a *Bd* y poblaciones asilvestradas de *L. catesbeianus*, se podría dar este tipo de competencia mediada por la quitridiomycosis

Quitridiomycosis y rana toro

El primer caso de quitridiomycosis en Argentina fue detectado por Herrera *et al.* (2005) en un ejemplar de *L. latrans* encontrado muerto en el año 2002 en la Provincia de Buenos Aires. A partir de ese momento se fueron incrementando las búsquedas y con ellas los registros para el país en diversas provincias: Buenos Aires, Córdoba, Misiones, Neuquén, San Juan, San Luis y Tucumán (Herrera *et al.* 2005, Arellano *et al.* 2006, 2009, Barrionuevo y Mangione 2006, Fox

et al. 2006, Ghirardi *et al.* 2009a, Agostini *et al.* 2010, Delgado *et al.* 2010, Gutiérrez *et al.* 2010, Longo *et al.* 2010). En algunas de esas provincias, según se detalló anteriormente también se han registrado poblaciones asilvestradas de rana toro: Buenos Aires, Córdoba, Misiones y San Juan (Sanabria *et al.* 2005, 2011a, 2011b, Pereyra *et al.* 2006, Verniere 2006, Akmentis *et al.* 2009, Barrasso *et al.* 2009, Akmentis y Cardozo 2010, Nori *et al.* 2011); y el registro más antiguo de *Bd* en el país reportado hasta ahora corresponde a ranas toro de un criadero santafesino (ejemplares fijados en 1993) (Ghirardi *et al.* 2011).

Existen trabajos realizados en diversas regiones del planeta donde *L. catesbeianus* es exótica, que sugieren que la rana toro funciona como un vector para una transmisión trans-específica de *Bd* a especies nativas (Cunningham *et al.* 2005, Goka *et al.* 2009), aportando evidencias a favor de la hipótesis del patógeno incipiente, descrita en el Capítulo I. Una situación similar ha sido descrita con *Xenopus gilli* como vector (Walker *et al.* 2008). Considerando que el registro para la Provincia de Santa Fe representa al más antiguo de presencia de *Bd* y el primer caso de quitridiomycosis en rana toro en Argentina, que además este dato implica que en el único ranario argentino en el que se ha investigado la presencia de *Bd*, se registró una infección con elevada prevalencia (Ghirardi *et al.* 2011) y el patógeno también se ha encontrado en los animales asilvestrados de San Juan, podríamos afirmar que estudiando la prevalencia, las dispersiones y las liberaciones de patógenos por parte de la especie introducida rana toro, lograríamos contribuir a entender el rol que juega el comercio de fauna en la introducción y el movimiento de nuevas enfermedades en nuestros ecosistemas (Picco y Collins 2008). Por otro lado, y teniendo en cuenta que ya hay poblaciones exitosamente establecidas de rana toro asilvestradas en diversas regiones del país (Sanabria *et al.* 2005, 2011a, 2011b, Pereyra *et al.* 2006, Verniere 2006, Akmentis *et al.* 2009, Barrasso *et al.* 2009, Akmentis y Cardozo 2010, Nori *et al.* 2011), los resultados obtenidos en este trabajo de muestreos propios, más el compilado de datos de encuestas y de la literatura representan una contribución importante como punto de partida para estudiar el rol que juega una especie invasora como la rana toro en la dispersión de *Bd* en anuros nativos de nuestra región.

No podemos concluir que la introducción de la rana toro significó el origen de la presencia de *Bd* en Argentina, porque no todas las localidades con *Bd* presentan invasiones de rana toro, y porque son necesarios monitoreos más exhaustivos para evaluar si existe una correlación entre la rana toro y la presencia de *Bd*. Sin embargo, los anfibios introducidos y criados en cautiverio pueden estar infectados y escaparse o ser liberados con el consecuente riesgo para la fauna nativa (Kupferberg 1997, Kiesecker y Blaustein 1998, Adams 2000, Blaustein y Kiesecker 2002, Kats y Ferrer 2003, Pearl *et al.* 2004, Pearl y Green 2005, Laufer *et al.* 2008, Ghirardi *et al.* 2011), por lo que enfatizamos la importancia del monitoreo de la distribución y dispersión de *Bd* en Argentina, focalizando esfuerzos en aquellas áreas donde se registraron poblaciones asilvestradas de rana toro, o en sitios cercanos a los criaderos que

funcionan actualmente, o en sitios donde se conoce que funcionó y cerró alguno. Así mismo, las regulaciones estrictas para el transporte, comercialización y cría de rana toro deben ser implementadas y puestos en marcha para prevenir dispersiones potenciales de *Bd* por la rana toro. Por último, aún en el caso de que *Bd* se halla encontrado siempre infectando a las poblaciones de especies nativas de Argentina (hipótesis del patógeno endémico descrita en el Capítulo I), estudios recientes sugieren que, cuando la rana toro es introducida en una región, las poblaciones asilvestradas de *L. catesbeianus* (y también las que se mantienen en cautiverio) pueden poseer una prevalencia de *Bd* superior a la de las especies nativas, y puede portar una diversidad de cepas de *Bd* mucho mayor que las especies con las que comparte el hábitat (Goka *et al.* 2009). La virulencia de las ‘nuevas’ cepas introducidas por rana toro puede ser mayor para las especies nativas que la de aquella cepa con la que estas poblaciones pudieran haber co-evolucionado (Briggs *et al.* 2010).

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Adams MJ. 2000. Pond permanence and the effects of exotic vertebrates on anurans. *Ecological Applications*. 10: 559-568.
- Agostini MG, Natale GS, Burrowes P. 2010. Presencia y prevalencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* en dos ensambles de anuros de los alrededores de la ciudad de La Plata. Libro de Resúmenes del XI Congreso Argentino de Herpetología. Buenos Aires. p. 9.
- Akmentis MS, Cardozo DE. 2010. American bullfrog *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802) invasion in Argentina. *Biological Invasions*. 12: 735-737.
- Akmentins MS, Pereyra LC, Lescano JN. 2009. Primer registro de una población asilvestrada de rana toro (*Lithobates catesbeianus*) en la provincia de Córdoba, Argentina. Notas sobre la biología de la especie. *Cuadernos de Herpetología*. 23: 25-32.
- Arellano ML, Ferraro DP, Steciow MM, Lavilla EO. 2009. Infection by the chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* in the yellow belly frog (*Elachistocleis bicolor*) from Argentina. *Herpetological Journal*. 19: 217-220.
- Arellano ML, Agostini M, Herrera R, Steciow MM, Lavilla EO, Barraso DA. 2006. Nuevo hallazgo de quitridiomycosis en el noreste de la provincia de Buenos Aires. VII Congreso Argentino de Herpetología. Libro de Resúmenes p. 124.
- Bai C, Garner TWJ, Li Y. 2010. First evidence on *Batrachochytrium dendrobatidis* in China: discovery of chytridiomycosis in introduced American bullfrogs and native amphibians in the Yunnan Province, China. *EcoHealth*. 7: 127-134.
- Barbado JL. 1992. Cría rentable de ranas. Editorial Albatros SACI. Buenos Aires, Argentina.
- Barraso DA, Cajade R, Nenda SJ, Baloriani G, Herrera R. 2009. Introduction of the American bullfrog *Lithobates catesbeianus* (Anura: Ranidae) in natural and modified environments: an increasing conservation problem in Argentina. *South American Journal of Herpetology*. 4: 69-75.
- Barriónuevo JS, Mangione S. 2006. Chytridiomycosis in two species of *Telmatobius* (Anura: Leptodactylidae) from Argentina. *Diseases of Aquatic Organisms*. 73: 171-174.
- Berger L, Speare R, Kent A. 1999. Diagnosis of chytridiomycosis in amphibians by histologic examination. World Wide Web file, <http://www.jcu.edu.au/school/phtm/PHTM/frogs/histo/chhisto.htm>.
- Berger L, Speare R, Daszak P, Green DE, Cunningham AA, Goggin CL, Slocombe R, Ragan MA, Hyatt AD, McDonald KR, Hines HB, Lips KR, Marantelli G, Parkes H. 1998. Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rainforests of Australia and Central America. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*. 95: 9031-9036.
- Blaustein AR, Kiesecker JM. 2002. Complexity in conservation. Lessons from the global decline of amphibian populations. *Ecol Lett*. 5: 597-608.
- Boone MD, Little EE, Semlitsch RD. 2004. Overwintered bullfrog tadpoles negatively affect salamanders and anurans in native amphibian communities. *Copeia*. 2004(3): 683-690.
- Borges-Martins M, Di-Bernardo M, Vinciprova G, Measey J. 2002. Geographic distribution. *Rana catesbeiana*. *Herpetological Review*. 33: 319.
- Boyle DG, Boyle V, Olsen JA, Morgan JA, Hyatt AD. 2004. Rapid quantitative detection of chytridiomycosis (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in amphibian samples using real-timePCR assay. *Diseases of Aquatic Organisms*. 60: 133-139.
- Bury RB, Luckenbach RA. 1976. Introduced amphibians and reptiles in California. *Biological Conservation*. 10: 1-14.
- Cisneros-Heredia DF. 2004. *Rana catesbeiana*. Geographic Distribution. *Herpetological Review*. 35(4): 406.
- Cunningham AA, Garner TWJ, Aguilar-Sanchez V, Banks B, Foster J, Sainsbury AW, Perkins M, Walker SF, Hyatt AD. 2005. Emergence of amphibian chytridiomycosis in Britain. *Veterinary Record*. 157: 386-387.
- Daszak P, Berger L, Cunningham AA, Hyatt AD, Green DE, Speare R. 1999. Emerging infectious diseases and amphibian population declines. *Emerging Infectious Diseases*. 5: 735-748.
- Daszak P, Striemy A, Cunningham AA, Longcore JE, Brown CC, Porter D. 2004. Experimental evidence that the bullfrog (*Rana catesbeiana*) is a potential carrier of chytridiomycosis, an emerging fungal disease of amphibians. *Herpetological Journal*. 14: 201-207.
- De Bernardi LA, Alderete JM. 1999. Del bañado al criadero. *Revista Alimentos Argentinos* N° 12. Disponible en http://www.alimentosargentinos.gov.ar/0-3/revistas/r_12/12_07_rana.htm

- Delgado CS, Natale GS, Barrasso DA, Herrera R. 2010. Presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* en *Physalaemus fernandezae* (Anura: Leiuperidae) para Buenos Aires, Argentina. XI Congreso Argentino de Herpetología. Libro de Resúmenes p. 62.
- Easteal S. 1981. The history of introductions of *Bufo marinus* (Amphibia: Anura): a natural experiment in evolution. *Biological Journal of the Linnean Society*. 16: 93-113.
- FAO. © 2005-2011. Cultured Aquatic Species Information Programme. *Rana catesbeiana*. Cultured Aquatic Species Information Programme. Text by Flores Nava, A. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rome. Updated 9 February 2005. [Cited 9 September 2011]. http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Rana_catesbeiana/
- Fisher MC. 2009. Endemic and introduced haplotypes of *Batrachochytrium dendrobatidis* in Japanese amphibians: sink or source? *Molecular Ecology*. 18: 4731-4733.
- Fisher MC, Garner TWJ. 2007. The relationship between the introduction of *Batrachochytrium dendrobatidis*, the international trade in amphibians and introduced amphibian species. *Fungal Biology Reviews*. 21: 2-9.
- Fox SF, Greer AI, Torres-Cervantes R, Collins JP. 2006. First case of ranavirus associated morbidity and mortality in natural populations of the South American frog *Atelognathus patagonicus*. *Diseases of Aquatic Organisms*. 72: 87-92.
- Frost DR. 2009. Amphibian species of the world: an online reference. Version 5.3 (12 February 2009). <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/>. Accessed 13 May 2009.
- Garner TWJ, Perkins MW, Govindarajulu P, Seglie D, Walker S, Cunningham AA, Fisher MC. 2006. The emerging amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* globally infects introduced populations of the North American bullfrog *Rana catesbeiana*. *Biological Letters of the Royal Society*. 1-5.
- Ghirardi R, López JA, Scarabotti PA, Steciow MM, Perotti MG. 2011. First record of the chytrid fungus in *Lithobates catesbeianus* from Argentina: exotic species and conservation. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. RMB_2056.
- Ghirardi R, Sanabria EA, Quiroga LB, Perotti MG, Levy MG. 2009b. *Lithobates catesbeianus* en Argentina y su relación con la quitridiomycosis. 2009. X Congreso Argentino de Herpetología. Libro de Resúmenes. p. 20.
- Ghirardi R, Lescano JN, Longo MS, Robledo G, Steciow MM, Perotti MG. 2009a. *Batrachochytrium dendrobatidis* in Argentina: first record in *Leptodactylus gracilis* and another record in *Leptodactylus ocellatus*. *Herpetological Review*. 40: 175-176.
- Giovanelli JGR, Haddad CFB, Alexandrino J. 2008. Predicting the potential distribution of the alien invasive American bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) in Brazil. *Biological Invasions*. 10: 585-590.
- Global Invasive Species Database 2005. <http://www.issg.org/database>. Assessed 6 Mar 2007.
- Gorzula S. 1996. The trade in dendrobatid frogs from 1987 to 1993. *Herpetological Review*. 27: 116-123.
- Groff JM, Mughannam A, McDowell TS, Wong A, Dykstra MJ, Frye FL, Hedrick RP. 1991. An epizootic of cutaneous zygomycosis in cultured dwarf African clawed frogs (*Hymenochirus curtipes*) due to *Basidiobolus ranarum*. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*. 29: 215-23.
- Gutierrez FR, Arellano ML, Moreno LE, Natale GS. 2010. *Batrachochytrium dendrobatidis* in Argentina: first record of infection in *Hypsiboas cordobae* and *Odontophrynus occidentalis* tadpoles in San Juan province. *Herpetological Review*. 41(3): 323-324.
- Hanselmann R, Rodriguez A, Lampo M, Fajardo-Ramos L, Aguirre AA, Kilpatrick AM, Rodriguez JP, Daszak P. 2004. Presence of an emerging pathogen of amphibians in introduced bullfrogs (*Rana catesbeiana*) in Venezuela. *Biological Conservation*. 120: 115-119.
- Helfrich LA, Neves RJ, Parkhurst J. 2001. Commercial Frog Farming. Virginia Cooperative Extension Publication. 420-425.
- Herrera R, Steciow MM, Natale GS. 2005. Chytrid fungus parasitizing the wild amphibian *Leptodactylus ocellatus* (Anura: Leptodactylidae) in Argentina. *Diseases of Aquatic Organisms*. 64: 247-252.
- Hirai T. 2004. Diet composition of introduced bullfrog, *Rana catesbeiana*, in the Mizorogaike Pond of Kyoto, Japan. *Ecological Restoration*. 19: 375-380.
- Holt RD, Lawton JH. 1994. The ecological consequences of shared natural enemies. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 25: 495-520.
- Hudson P, Greenman J. 1998. Competition mediated by parasites: biological and theoretical progress. *Trends in Ecology and Evolution*. 13: 387-390.
- Jennings MR, Hayes MP. 1985. Pre 1900 overharvest California red legged frogs (*Rana aurora draytonii*): the inducement for bullfrog (*Rana catesbeiana*) introduction. *Herpetological Review*. 41: 94-103.

- Kaefer IL, Boelter RA, Cechin SZ. 2007. Reproductive biology of the invasive Bullfrog *Lithobates catesbeianus* in southern Brazil. *Annales Zoologici Fennici*. 44: 435-444.
- Kats LB, Ferrer RP. 2003. Alien predators and amphibian declines: review of two decades of science and the transition to conservation. *Diversity and Distribution*. 9: 99-110.
- Kiesecker JM, Blaustein AR. 1998. Effects of introduced bullfrogs and smallmouth bass on microhabitat use, growth and survival of native red legged frogs (*Rana aurora*). *Conservation Biology*. 12: 776-787.
- Kilpatrick AM, Briggs CJ, Daszak P. 2010. The ecology and impact of chytridiomycosis: an emerging disease of amphibians. *Trends in Ecology and Evolution*. 25(2):109-118
- Kraus F. 2009. Alien reptiles and amphibians. A scientific compendium and analysis. *Invading nature: Springer series in Invasion Ecology 4, USA*. 555p.
- Kupferberg SJ. 1997. Bullfrog (*Rana catesbeiana*) invasion in a California river: the role of larval competition. *Ecology*. 78: 1736-1751.
- Laufer G, Canavero A, Nuñez D, Maneyro R. 2008. Bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) invasion in Uruguay. *Biological Invasions*. 10: 1183-1189.
- Lezcano MA, Faifer G. 2009. La piscicultura en Misiones: una mirada institucional de la actividad. *Revista digital de Innovación Tecnológica del Comité Ejecutivo de Desarrollo e Innovación Tecnológica de la provincia de Misiones*. Nº 6.
- Longo MS, Lescano JN, Robledo G. 2010. Presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* en anuros endémicos de Pampa de Achala, Córdoba. XI Congreso Argentino de Herpetología. Libro de Resúmenes. p. 106.
- Lowe S, Brone M, Boudjelas S, De Poorter M. 2000. 100 of the world's worst invasive alien species. A selection from the Global Invasive Species Database. ISSG, SSC, IUCN. Disponible en www.issg.org/book-let.pdf.
- Luchini L. 1995. Situación de la ranicultura en la República Argentina. *Technofrog*. 95: 3-14.
- Luchini L, Panne Huidoro S. 2008. Perspectivas en acuicultura: nivel mundial, regional y local. *Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos*. 99 pp.
- Mazzoni R, Cunningham AA, Daszak P, Apolo A, Perdomo E, Speranza G. 2003. Emerging pathogen of amphibians in frogs (*Rana catesbeiana*) farmed for international trade. *Emerging Infectious Diseases*. 9: 995-998.
- McAlpine DF, Dilworth TG. 1989. Microhabitat and prey size among three species of *Rana* (Anura: Ranidae) sympatric in eastern Canada. *Canadian Journal of Zoology*. 67: 2244-2252.
- McCallum H, Dobson A. 1995. Detecting disease and parasite threats to endangered species and ecosystems. *Trends in Ecology and Evolution*. 10: 190-194.
- Morehouse EA, James TY, Ganley ARD, Vilgalys R, Berger L, Murphy PJ, Longcore JE. 2003. Multilocus sequence typing suggests the chytrid pathogen of amphibians is a recently emerged clone. *Molecular Ecology*. 12: 395-403.
- Mutschmann F, Berger L, Zwart P, Gaedicke C. 2000. Chytridiomykose bei amphibien-erstmaliger nachweis in Europa. *Berliner und Münchener Tierarzt. Wochenschr.* 113: 380-383.
- Nace GW, Waage JK, Richards CM. 1971. Sources of amphibians for research. *Bioscience*. 21: 768-773.
- New South Wales National Parks and Wildlife Service. 2002. Predation by *Gambusia holbrooki*: the plague minnow. Draft threat abatement plan. NPWS, Hurstville, NSW.
- Nori J, Akmentins MS, Ghirardi R, Frutos N, Leynaud G. 2011. American bullfrog invasion in Argentina: Where should we take urgent measures? *Biodiversity and Conservation*. DOI 10.1007/s10531-011-0014-3.
- Pearl CA, Green DE. 2005. *Rana catesbeiana* (American bullfrog) Chytridiomycosis. *Herpetological Review*. 36(6): 305-306.
- Pearl CA, Adams MJ, Bury RB, McCreary B. 2004. Asymmetrical effects of introduced bullfrogs (*Rana catesbeiana*) on native ranid frogs in Oregon. *Copeia* 2004: 11-20.
- Pereyra M, Baldo D, Krauczuk ER. 2006. La "rana toro" en la selva atlántica interior Argentina: un nuevo problema de conservación. *Cuadernos de Herpetología*. 20: 37-41.
- Pessier AP, Nichols DK, Longcore JE, Fuller MS. 1999. Cutaneous chytridiomycosis in poison dart frogs (*Dendrobates spp.*) and White's tree frogs (*Litoria caerulea*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 11: 194-199.
- Picco AM, Collins JP. 2008. Amphibian commerce as a likely source of pathogen pollution. *Conservation Biology*. 22: 1582-1589.
- Picco AM, Brunner JL, Collins JP. 2007. Susceptibility of the endangered California tiger salamander, *Ambystoma californiense*, to ranavirus infection. *Journal of Wildlife Diseases*. 43: 286-290.

- Poblete GA, Minetti JL. 1999. Configuración espacial del clima de San Juan. CD Síntesis del Cuaternario de la Provincia de San Juan. INGEO Universidad Nacional de San Juan.
- Reed KD, Ruth GR, Meyer JA, Shukla SK. 2000. *Chlamydia pneumoniae* infection in a breeding colony of African clawed frogs (*Xenopus tropicalis*). Emerging Infectious Diseases. 6: 196-199.
- Rodríguez F. 2007. Cría rentable de ranas. Manual teórico-práctico para su producción y consumo. Ed. Continente, Buenos Aires. 128 pp.
- Rosen PC, Schwalbe CR. 1995. Bullfrogs: introduced predators in southwestern wetlands. p. 452-454. En: LaRoe ET, Farris GS, Puckett CE, Doran PD, Mac MJ (eds). Our living resources: a report to the nation on the distribution, abundance, and health of U.S. plants, animals, and ecosystems. U.S. Department of the Interior, National Biological Service, Washington DC.
- Rueda Almonacid JV. 2000. Situación actual y problemática generada por la introducción de ‘rana toro’ a Colombia. Revista de la Academia Colombiana de Ciencias. 23(supl esp): 367-393.
- Sanabria E., Quiroga L. 2010. *Lithobates catesbeianus* (American Bullfrog). Diet of alien species. Herpetological Review, 41(3).
- Sanabria EA, Quiroga LB, Acosta JC. 2005. Introducción de la *Rana catesbeiana* (Rana toro) en ambientes Pre-cordilleranos de la Provincia de San Juan, Argentina. Multequina. 14: 65-68.
- Sanabria EA, Debandi G, Quiroga LB, Martínez F, Corbalán V. 2011b. First record of the American bullfrog *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802) in Mendoza province, Argentina. Cuadernos de Herpetología. 25(2).
- Sanabria EA, Ripio Y, Jordan M, Quiroga LB, Ariza M, Guillemain M, Perez M, Chávez H. 2011a. A new record for American Bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) in San Juan, Argentina. Revista Mexicana de Biodiversidad. 82: 311-313.
- Schlaepfer MA, Hoover C, Dodd CK Jr. 2005 Challenges in evaluating the impact of the trade in amphibians and reptiles on wild populations. Bioscience. 55: 256-264.
- Stumpel AHP. 1992. Successful reproduction of introduced bullfrog *Rana catesbeiana* in northwestern Europe: a potential threat of indigenous amphibians. Biological Conservation. 60: 61-62.
- Teixeira da Silva E, Ribeiro Filho OP. 2009. Predation on juveniles of the invasive American Bullfrog *Lithobates catesbeianus* (Anura, *Ranidae*) by native frog and snake species in South-eastern Brazil. Herpetology Notes. 2: 215-218.
- Teixeira RD, Periera Mello SCR, Lima dos Santos CAM. 2001. The world market for frog legs. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Globefish Research Programme. 82: 1-44.
- Todd K. 2001. Tinkering with Eden: a natural history of exotics in America. W.W. Norton Co., New York.
- Ventimiglia LA, Carta HG, Rillo SN. 2003. Inundaciones: un problema para todos. pp. 65-72. En: Maiola OC, Gabellone NA, Hernandez MA (eds.), Inundaciones en la región pampeana, Editorial de la Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires.
- Verniere. 2006. www.inbiar.org.ar Invasive alien species database, I3N Argentina – Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca.
- Vigliano PH, Darrigan G. 2002. Argentina's Freshwater Systems, Aliens In Wonderland. pp 25-44 En: Alexandria VA. Proceedings of the 11th International Conference on Aquatic Invasive Species. The Professional Edge, Pembroke, ON.
- Walker SF, Bosch J, James TY, Litvintseva AP, Oliver Valls JA, Piña S, García G, Abadie Rosa G, Cunningham AA, Hole S, Griffiths R, Fisher MC. 2008. Invasive pathogens threaten species recovery programs. Current Biology. 18(18): R853-R854.
- Weldon C, Du Preez LH, Hyatt AD, Muller R, Speare R. 2004. Origin of the amphibian chytrid fungus. Emerging Infectious Diseases. 10: 2100-2105.
- Woodhams DC, Ardipradja K, Alford RA, Marantelli G, Reinert LK, Rollins-Smith LA. 2007. Resistance to chytridiomycosis varies among amphibian species and is correlated with skin peptide defenses. Animal Conservation. 10: 409-417.

CAPÍTULO IV

*“... Las ideas son como las estrellas, no llegarás a tocarlas con las manos,
pero como el marinero en el desierto de las aguas, las eliges como guía
y si las sigues alcanzarás tu destino ...”*
(Carl Schurz)

PREDICCIÓN DE NICHOS POTENCIAL DE *Batrachochytrium dendrobatidis* EN ARGENTINA

INTRODUCCIÓN

Conocer en detalle la distribución geográfica y los requisitos ecológicos de las especies es fundamental para planear estrategias de conservación (Ferrier *et al.* 2002, Funk y Richardson 2002, Rushton *et al.* 2004), así como para entender los determinantes ecológicos y evolutivos que intervienen en los patrones de diversidad de las mismas (Rosenzweig 1995, Brown y Lomolino 1998, Ricklefs 2004, Graham *et al.* 2006).

Un sitio con clima adecuado para una especie puede ser establecido mediante modelos de distribución a través de variables climáticas -Climate Envelope Models: CEM- (Heikkinen *et al.* 2006, Phillips *et al.* 2006). Estos modelos de distribución potencial de especies asumen que, en un sentido evolutivo, el complejo climático es específico para cada especie, conservativo y determinante primario de su distribución (Wiens y Graham 2005, Rödder *et al.* 2008).

Los modelos de distribución de especies intentan proveer predicciones detalladas sobre la distribución de las especies, relacionando presencia o abundancia de las mismas con predictores ambientales (Elith *et al.* 2006). En este sentido estos modelos han provisto a los investigadores de herramientas innovadoras para explorar diferentes cuestiones en ecología, evolución y conservación. Algunos ejemplos son la utilización de modelos de nicho para estudiar relaciones entre parámetros ambientales y riqueza de especies (Mac-Nally y Fleishman 2004), estudios de las características y configuración espacial del hábitat que permitan la presencia de especies en diferentes paisajes (Araújo y Williams 2000, Ferrier *et al.* 2002, Scotts y Drielsma 2003), el potencial de invasión de especies introducidas (Peterson 2003, Goolsby 2004), la distribución de especies en el pasado (Hugall *et al.* 2002, Peterson *et al.* 2004b) o en climas futuros (Bakkenes *et al.* 2002, Araújo *et al.* 2004, Skov y Svenning 2004, Thomas *et al.* 2004, Thuiller *et al.* 2005), y la diferenciación ecológica y geográfica en la distribución de especies cercanas (Cicero 2004, Graham *et al.* 2004).

Entre los usos antes mencionados, el más interesante aplicable a este trabajo es el de predecir áreas ecológicamente adecuadas para el establecimiento de especies invasoras (Zalba *et al.* 2000, Peterson y Vieglais 2001, Peterson 2003). Esta metodología construye modelos de nicho ecológico basados en valores de variables ambientales (dimensiones de nicho) en las localidades donde la especie blanco ha sido registrada. Luego, el modelo de nicho es proyectado en un espacio geográfico para identificar regiones donde la especie podría estar presente pero no ha sido registrada aún o donde podría establecerse después de una dispersión natural o mediada (Peterson 2003).

Además, este tipo de modelos se han utilizado como herramienta fundamental para modelar la distribución potencial de parásitos cuando no todas las facetas de la enfermedad son conocidas (Peterson *et al.* 2002, Peterson *et al.* 2004a). Este abordaje es tentador para los parasitólogos debido a que los investigadores pueden tener una estimación generalizada de la distribución geográfica de un parásito sin conocer las complejidades de la dinámica de su transmisión (Haverkost *et al.* 2010).

En este sentido, desde hace unos años se ha centrado la atención en la relación que existe entre el clima, las enfermedades emergentes y su contribución a la declinación de poblaciones de fauna silvestre. En referencia a esto último, la declinación de los anfibios causada por el hongo quitridial *Batrachochytrium dendrobatidis* y la relación entre el hongo y el clima están teniendo una especial atención. Esta línea de trabajo es conocida como la hipótesis de la epidemia relacionada al clima (“the climate-linked epidemic hypothesis”) (Pounds y Crump 1994, Pounds y Puschendorf 2004).

Se sabe que el clima puede jugar un rol indirecto en facilitar el desarrollo de ciertas enfermedades en los anfibios (Kiesecker *et al.* 2001) y que las condiciones climáticas fluctuantes pueden mostrar una relación cercana en la explosión de ciertos patógenos (Pounds y Crump 1994) como por ejemplo, el moho acuático oportunista *Saprolegnia ferax* (Saprolegniales, Oomycota) perteneciente al Reino Starminipila (Dick 2001) (Blaustein *et al.* 2003). Coincidiendo con esto, se espera que la infección por el hongo quitridial *Bd* sea particularmente sensible a las influencias ambientales, debido a que el patógeno parasita exclusivamente organismos ectotermos, los cuales están fisiológicamente afectados por las condiciones ambientales de su entorno (Deutsch *et al.* 2008).

El hongo *Bd* ha sido detectado en casi todos los sitios del globo donde se lo ha buscado, desde el norte en Canadá hasta el sur de Australia (www.Bd-maps.net) en un amplio gradiente altitudinal (Retallick *et al.* 2004, McDonald *et al.* 2005, Woodhams y Alford 2005, Puschendorf *et al.* 2006, Kriger y Hero 2008), desde los 5348msnm (Seimon *et al.* 2007) hasta localidades con altitudes cercanas al nivel del mar (Herrera *et al.* 2005, Kriger *et al.* 2007), incluyendo además sitios tan diversos desde el punto de vista del tipo de hábitat como áreas protegidas, campos agrícolas y zonas urbanizadas (Berger *et al.* 2004). Los modelos bioclimáticos

realizados hasta ahora para predecir la distribución potencial de *Bd* a gran escala, indican que presenta una amplia tolerancia ambiental y, consecuentemente, pronostican que este hongo zoospórico puede ocupar porciones significativas del planeta en un muy amplio rango de condiciones y combinaciones ambientales (Ron 2005, Puschendorf *et al.* 2009, Rödder *et al.* 2009).

A pesar de que *Bd* es un organismo distribuido a nivel global y que está presente en todos los continentes (www.Bd-maps.net), el conocimiento sobre su biología aún tiene aspectos importantes sin resolver, entre los que caben destacar los factores que limitan su distribución y abundancia en la naturaleza. En este sentido se ha sugerido que dentro de estos aspectos, los factores climáticos son especialmente importantes (Pounds *et al.* 2006).

Hasta ahora se han estudiado las condiciones óptimas para el crecimiento del quitridio en laboratorio. En lo que respecta a las temperaturas, el hongo crece de manera óptima entre los 17 y 25°C, mientras que a 28°C cesa de crecer y muere luego de una semana de exposición a más de 29°C (Piotrowski *et al.* 2004). A menores temperaturas, *Bd* es capaz de sobrevivir a 4°C y por lo tanto puede pasar el invierno en sus hospedadores o sobrevivir en la materia orgánica mientras tenga la humedad suficiente (Kilpatrick *et al.* 2010), incluso en climas templados (Piotrowski *et al.* 2004).

En un trabajo realizado en Australia, Kriger y Hero (2007) estudiaron una serie meteorológica a lo largo de 28 años en una región templada, antes y después de un episodio de declinación de especies y mortalidad en masa de anfibios relacionada con quitridiomycosis. En dicho estudio los autores encontraron una relación significativa entre los años de epidemia y las variables ambientales, principalmente la temperatura y humedad.

En otros estudios (Bosch *et al.* 2001, Collins *et al.* 2003) se han registrado también variables ambientales correlacionadas a sitios de infección vinculadas con elevada altitud y hábitats de bosque. Los ambientes en los que la temperatura y ciclos hídricos covarían también podrían impactar en el crecimiento del hongo quitridial (Collins *et al.* 2003).

Lo importante en el análisis de las variables ambientales óptimas para el desarrollo de *Bd* es poder predecir cómo potencialmente responderán los anfibios a la infección, ya que, como se sabe que el sistema inmunológico de los anfibios decrece en correspondencia con la disminución en las temperaturas (Matutte *et al.* 2000, Rollins-Smith *et al.* 2002), estos vertebrados serían más susceptibles a la infección por el quitridio a temperaturas en las que este hongo muestra su mayor potencial patogénico (Berger *et al.* 2004, Kriger y Hero 2007).

Las temperaturas y precipitaciones cambian drásticamente a lo largo de las estaciones, las altitudes y latitudes. Esto genera variaciones en el poder patógeno de *Bd* y en la capacidad de supervivencia de los anfibios en relación a las características de su sistema inmune, lo que tendrá importantes implicancias en la relación ecológica parásito-huésped vinculada a la enfermedad (Kriger y Hero 2007).

Esta asociación entre la quitridiomicosis y algunas variables ambientales ha sido en principio, evaluada y registrada en estudios experimentales de laboratorio (Berger et al 1999, 2004, Longcore *et al.* 1999, Puschendorf *et al.* 2006), y aún no ha sido estudiada en detalle en el campo, por lo menos en el territorio argentino. Por eso, un entendimiento de los factores geográficos y climáticos asociados con la presencia de quitridiomicosis en general, y en particular en Argentina, y la comprensión de las interacciones complejas entre anfibios, el hongo y los factores climáticos en el ambiente natural, pueden ayudar a predecir localidades particularmente susceptibles a la infección y ser una herramienta importante a la hora de evaluar planes de monitoreo, manejo y conservación de especies nativas de anuros a corto mediano y largo plazo en relación a esta enfermedad emergente.

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Considerando que *Batrachochytrium dendrobatidis* es el agente que provoca la quitridiomycosis y que esta enfermedad está considerada como una de las causas de declinación de anfibios a nivel global, es de suma importancia conocer la distribución actual y potencial del patógeno en nuestro país. Teniendo en cuenta que los modelos de distribución de especies intentan proveer predicciones detalladas sobre la distribución de las especies, relacionando presencia o abundancia de las mismas con predictores ambientales para este capítulo se plantean los siguientes objetivos:

- Elaborar mapas de predicción de nicho ecológico de *Bd* para Argentina.
- Determinar las variables ambientales que influyen en la distribución de *Bd* en Argentina.
- Analizar los sitios donde *Bd* podría prosperar en relación a las características ambientales de los mismos.

METODOLOGÍA

Para identificar áreas de distribución potencial de *Batrachochytrium dendrobatidis* en Argentina se elaboraron mapas de predicción del nicho ecológico utilizando el programa MaxEnt 3.3.3e [Maximun Entropy modelling program: <http://www.cs.princeton.edu/~shapire/maxent> (Phillips *et al.* 2006)]. El mismo ha sido ubicado entre los métodos más eficientes para el modelado de la distribución de especies a partir de datos de sólo presencia, incluso con un número reducido de muestras (Elith *et al.* 2006, Hernandez *et al.* 2006, Phillips *et al.* 2006).

El MaxEnt utiliza datos de registro (coordenadas) de la especie blanco y los relaciona con variables ambientales y topográficas estimando las distribuciones más uniformes (entropía máxima) a través del área de estudio. El resultado del modelo expresa el valor de idoneidad del hábitat para la especie como una función de las variables ambientales. Un valor alto de la función de distribución en una celda determinada, indica que ésta presenta condiciones ambientales muy favorables para la presencia de la especie (Morejon 2009).

Para la elaboración de los mapas se utilizaron registros de presencia del hongo quitridial infectando anfibios anuros. Los datos fueron obtenidos de muestreos propios a campo (Tabla 2 del Capítulo II) y de bibliografía (Tabla 1 de este Capítulo) (Herrera *et al.* 2005, Barrionuevo y Mangione 2006, Fox *et al.* 2006, Arellano *et al.* 2006, 2009, Agostini *et al.* 2010, Delgado *et al.* 2010, Ghirardi *et al.* 2009, Gutiérrez *et al.* 2010).

Tabla 1. Registros de *Batrachochytrium dendrobatidis* infectando anfibios auros en Argentina. Se cita la fuente del registro.

Especie	Provincia	Longitud (O)	Latitud (S)	Fuente
<i>Telmatobius atacamensis</i>	Salta	66° 13' 57,9''	24° 14' 50''	Barrionuevo y Mangione 2005
<i>Telmatobius atacamensis</i>	Salta	66° 13' 57,9''	24° 14' 50''	Barrionuevo y Mangione 2005
<i>Telmatobius pisanoi</i>	Tucumán	66° 02' 45,2''	26° 21' 11,7''	Barrionuevo y Mangione 2005
<i>Atelognathus patagonicus</i>	Neuquén	70° 25' 7,2''	39° 00' 46''	Fox <i>et al.</i> 2006
<i>Hypsiboas cordobae</i>	Córdoba	65° 55' 40,6''	32° 24' 13,1''	Gutiérrez <i>et al.</i> 2010.
<i>Odontophrynus accidentalis</i>	Córdoba	65° 55' 40,6''	32° 24' 13,1''	Gutiérrez <i>et al.</i> 2010
<i>Elachistocleis bicolor</i>	Misiones	56° 01' 43''	27° 26' 37,3''	Arellano <i>et al.</i> 2009
<i>Leptodactylus gracilis</i>	Córdoba	64° 36' 20,3''	31° 23' 7,8''	Ghirardi <i>et al.</i> 2009
<i>Leptodactylus latrans</i>	Córdoba	64° 35' 37,0''	31° 23' 48,1''	Ghirardi <i>et al.</i> 2009
<i>Leptodactylus latrans</i>	Buenos Aires	57° 51'	35° 1'	Herrera <i>et al.</i> 2005
<i>Leptodactylus latrans</i>	Buenos Aires	58° 01'	34° 53'	Arellano <i>et al.</i> 2007
<i>Leptodactylus latrans</i>	Buenos Aires	57° 56'	34° 50'	Arellano <i>et al.</i> 2007
<i>Leptodactylus latrans</i>	Buenos Aires	58° 04' 31''	34° 56' 05''	Agostini <i>et al.</i> 2010
<i>Leptodactylus latrans</i>	Buenos Aires	57° 51' 28''	35° 01' 08''	Agostini <i>et al.</i> 2010
<i>Hypsiboas pulchellus</i>	Buenos Aires	58° 04' 31''	34° 56' 05''	Agostini <i>et al.</i> 2010
<i>Hypsiboas pulchellus</i>	Buenos Aires	57° 51' 28''	35° 01' 08''	Agostini <i>et al.</i> 2010

Especie	Provincia	Longitud (O)	Latitud (S)	Fuente
<i>Pseudis minutus</i>	Buenos Aires	58° 04' 31''	34° 56' 05''	Agostini <i>et al.</i> 2010
<i>Rhinella fernandezae</i>	Buenos Aires	57° 51' 28''	35° 01' 08''	Agostini <i>et al.</i> 2010
<i>Physalaemus fernandezae</i>	Buenos Aires	58° 0' 35,7''	34°48' 11.9''	Delgado <i>et al.</i> 2010

En cuanto a las variables utilizadas para la caracterización del nicho ecológico, se trabajó con 19 variables ambientales y una topográfica (Tabla 2) obtenidas de la base de datos publicada de WorldClim, que surgen de una interpolación de datos climáticos observados entre los años 1950 y 2000 en diferentes estaciones utilizando latitud, longitud y elevación como variables independientes (Hutchinson 2004). De todas las variables se seleccionaron aquellas con resolución de 30 arcsec ~1 km (Hijmans *et al.* 2004) (las mismas se encuentran disponibles en <http://www.worldclim.org>) (Anexo: Figuras 13 a 17).

Tabla 2. Variables utilizadas: las temperaturas se encuentran expresadas en °C, las precipitaciones en mm y la elevación en metros sobre el nivel del mar (msnm). Se especifican las referencias particulares para cada variable, que se usarán en el texto de aquí en adelante.

Variable	Referencia
Temperatura Media Anual	"TMedAnual"
Rango Medio Diurno	"RangMedDiur"
Isoterma	"Isoterm"
Temperatura Estacional	"TEstac"
Temperatura Máxima en el Mes más Cálido	"TMaxMesC"
Temperatura Mínima en el Mes más Frío	"TMinMesF"
Rango de Temperatura Anual	"RangTAnual"
Temperatura Media en la Estación más Húmeda	"TMedEstH"
Temperatura Media en la Estación más Seca	"TMedEstS"
Temperatura Media en la Estación más Cálida	"TMedEstC"
Temperatura Media en la Estación más Fría	"TMedEstF"
Precipitación Anual	"PAnual"
Precipitación en el Mes más Húmedo	"PMesH"
Precipitación en el Mes más Seco	"PMesS"
Precipitación Estacional	"PEst"
Precipitación en la Estación más Húmeda	"PEstH"
Precipitación en la Estación más Seca	"PEstS"
Precipitación en la Estación más Cálida	"PEstC"
Precipitación en la Estación más Fría	"PEstF"
Elevación	"Elev"

Para el análisis con el modelo se utilizaron las 20 capas ambientales mencionadas anteriormente. Según algunos autores el resultado del modelado cambia con la selección de

variables (relegando algunos coeficientes a cero), por lo tanto no consideran adecuado preseleccionarlas aleatoriamente para reducir el número de capas ambientales (Wollan *et al.* 2008). Por otro lado, según Elith y Leathwick (2009) en el MaxEnt, el resultado obtenido es más estable cuando se utilizan variables correlacionadas, por lo que no hay necesidad de remover dichas variables (aunque algunas sean ecológicamente irrelevantes), o realizar preprocesos como análisis de componentes principales (ACP) para seleccionar variables de los ejes dominantes.

Para la salida se seleccionó el modo de corrida logística, que proporciona un estimado entre 0 y 1 y resulta sencilla a la hora de interpretar los resultados. La corrida logística estima la probabilidad de registro de una especie, asumiendo que el diseño de muestreo es tal que las localidades de presencia típicas tienen una probabilidad de presencia de alrededor de 0,5.

Los datos de ocurrencia del hongo quitridial fueron divididos en dos lotes: 75% de los puntos fueron utilizados para la predicción del modelo y 25% para la evaluación/validación del mismo como sugieren Phillips *et al.* (2006). Se realizaron 1000 iteraciones y 10 réplicas utilizando como parámetro de evaluación la validación cruzada.

El modelo resultante fue evaluado además con la Curva Operativa Característica del Receptor (“Receiver Operating Characteristics Curve - ROC”) (Fielding y Bell 1997). La curva ROC es generada mediante la gráfica de la relación entre la sensibilidad (tasa de verdaderos positivos) en el eje de las Y *versus* 1-especificidad (tasa de falsos positivos) en el eje de las X (para más información ver Fielding y Bell 1997 y Manel *et al.* 2001).

Adicionalmente, se calculó el área bajo la curva ROC (AUC, por sus siglas en inglés). El AUC es un índice utilizado ampliamente en estudios ecológicos y que proporciona una medida simple del desempeño del modelo y su capacidad de discriminar entre sitios donde la especie está presente *versus* sitios donde la especie está ausente (Hanley y McNeil 1982), independientemente de cualquier elección particular de un umbral (Phillips *et al.* 2006). La misma está generalmente determinada mediante la conexión de los puntos de sensibilidad y 1-especificidad. Se interpreta como la probabilidad de que un punto al azar positivo (presencia) y/o negativo (ausencia) esté correctamente clasificado en el modelo. Como no se cuenta con datos de ausencia, el AUC se calcula utilizando los datos de pseudo-ausencias generados por el modelo (Phillips *et al.* 2006).

El AUC no es sensible al número relativo de casos positivos o negativos del set de datos y se distribuye de 0 a 1 (Wiley *et al.* 2003). Un valor de 1 significa una discriminación o un modelo perfecto, un valor de 0,5 indica que la predicción no es mejor que el azar y los valores por debajo de 0,5 indican una relación entre los puntos de registro y las variables ambientales utilizadas, que es mucho menor a la esperada por azar (Guisan *et al.* 2007). Se tomó como modelo válido un valor de $AUC > 0,75$ (Elith 2002).

Los mapas obtenidos a partir del modelado fueron proyectados en ArcView con la extensión de Spatial Analyst (ArcView 3.2, Spatial Analyst, Hijmans *et al.* 2004). Las regiones apropiadas para el desarrollo del hongo se clasificaron con un Índice de Solapamiento (IS) de 0 a 1, en el que 0 es ausencia de similitud y 1 solapamiento completo.

A los mapas resultantes se les agregó una capa con los puntos de registro de *Bd* para visualizar su distribución en relación al modelado. Con los valores del Índice de Solapamiento de los sitios de presencia de *Bd* se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para evaluar si existen diferencias estadísticamente significativas entre ellos.

Por otro lado, en lo que respecta a las variables ambientales, a fin de estimar cuáles son las que más aportaron a la variación del modelado, se realizó una prueba de Jackknife. La misma consiste en realizar nuevas corridas con el modelado y en cada oportunidad se excluye una variable, se crea un modelo con las variables remanentes y se compara con una corrida en la que se utilizan todas las variables.

Además se realizaron gráficas que representan una caracterización ambiental de Argentina con el fin de evaluar la dispersión de las localidades ya conocidas de *Bd* sobre la misma.

Complementariamente, se realizó un Análisis de Componentes Principales para visualizar el grado de agrupamiento de las variables ambientales en el espacio donde *Bd* fue encontrado. Utilizando los ejes principales del ACP se realizaron biplots para ilustrar la dispersión de *Bd* sobre el mapa ambiental de Argentina. A los mismos se les aplicó la Rotación Varimax para visualizar mejor la distribución de los datos.

Por último se realizó un análisis de Mann-Whitney (no se encontró normalidad en los datos) para evaluar si la caracterización ambiental de los 1000 puntos al azar difiere significativamente de las variables ambientales extraídas para los puntos de registro de *Bd*.

RESULTADOS

El mapa

Para la corrida del MaxEnt se utilizaron 93 puntos de registro de *Batrachochytrium dendrobatidis* en Argentina (Tabla 1, Capítulo II: Tabla 2). Del total 84,8 puntos fueron utilizados para el modelado y 8,2 para la validación del modelo (Tabla 3).

Tabla 3. Número de puntos de registro de *Bd* utilizados para modelado y evaluación en cada una de las réplicas realizadas.

Réplicas	N-Modelado	N-Validación
<i>Bd_1</i>	84	9
<i>Bd_2</i>	84	9
<i>Bd_3</i>	84	9
<i>Bd_4</i>	84	9
<i>Bd_5</i>	84	9
<i>Bd_6</i>	84	9
<i>Bd_7</i>	86	7
<i>Bd_8</i>	86	7
<i>Bd_9</i>	86	7
<i>Bd_10</i>	86	7
Promedio	84.8	8.2

En la Figura 1 se puede observar la curva ROC que indica una confiabilidad alta del modelo y genera un valor alto de AUC tanto para el modelado ($0,981 \pm 0,001$) como para la validación ($0,950 \pm 0,037$), sugiriendo un buen poder predictivo de las salidas. En la Tabla 4 se detalla el valor de AUC para cada réplica tanto de los puntos de modelado como de los de validación (Tabla 4).

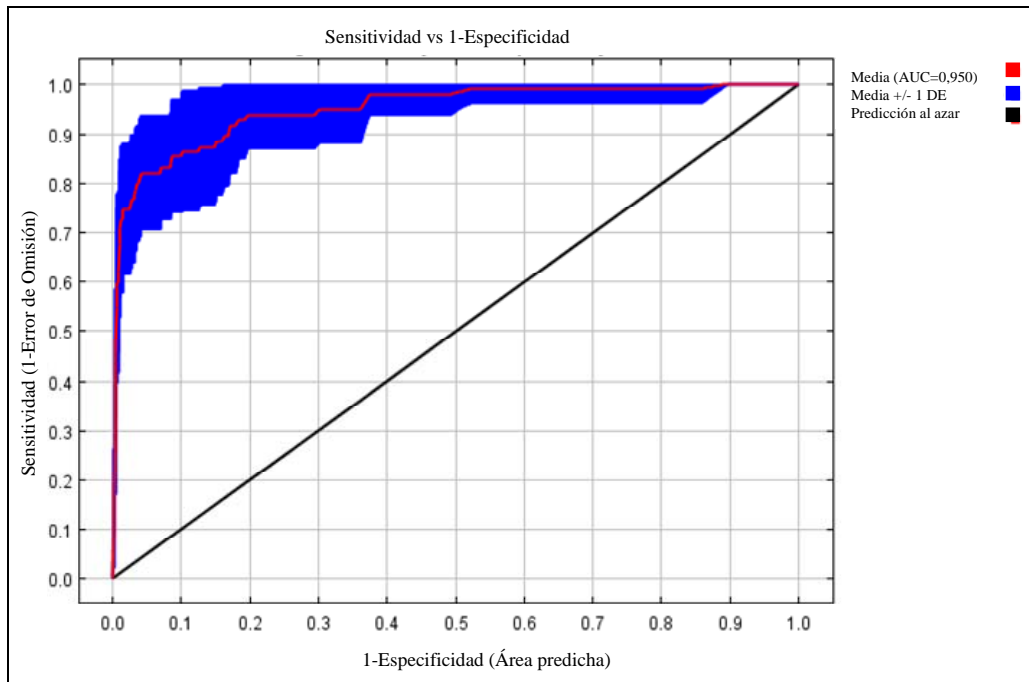


Figura 1. Curva ROC. La línea negra diagonal representa la predicción esperada por azar (AUC=0,5), la línea roja el AUC promedio de las 10 réplicas (AUC=0,985±0,001) y la banda azul la media ± 1 desvío estándar.

Tabla 4. Detalle del valor de AUC para cada réplica, tanto para el modelado como para la validación.

Réplicas	AUC-Modelado	AUC-Validación
<i>Bd_1</i>	0.986	0.908
<i>Bd_2</i>	0.987	0.920
<i>Bd_3</i>	0.983	0.982
<i>Bd_4</i>	0.985	0.995
<i>Bd_5</i>	0.986	0.893
<i>Bd_6</i>	0.984	0.997
<i>Bd_7</i>	0.985	0.959
<i>Bd_8</i>	0.983	0.979
<i>Bd_9</i>	0.986	0.942
<i>Bd_10</i>	0.987	0.922
Promedio	0.985	0.950
Desvío	0.001	0.037

Como salida del modelo se generaron tres mapas de probabilidad de presencia de *Bd* en función a las 10 réplicas realizadas. Un mapa con los valores de Índice de Solapamiento mínimos (*Bd_min*), uno con los valores promedios (*Bd_median*) y un tercer mapa con los valores máximos (*Bd_max*) (Figuras 2a, 2b y 2c).

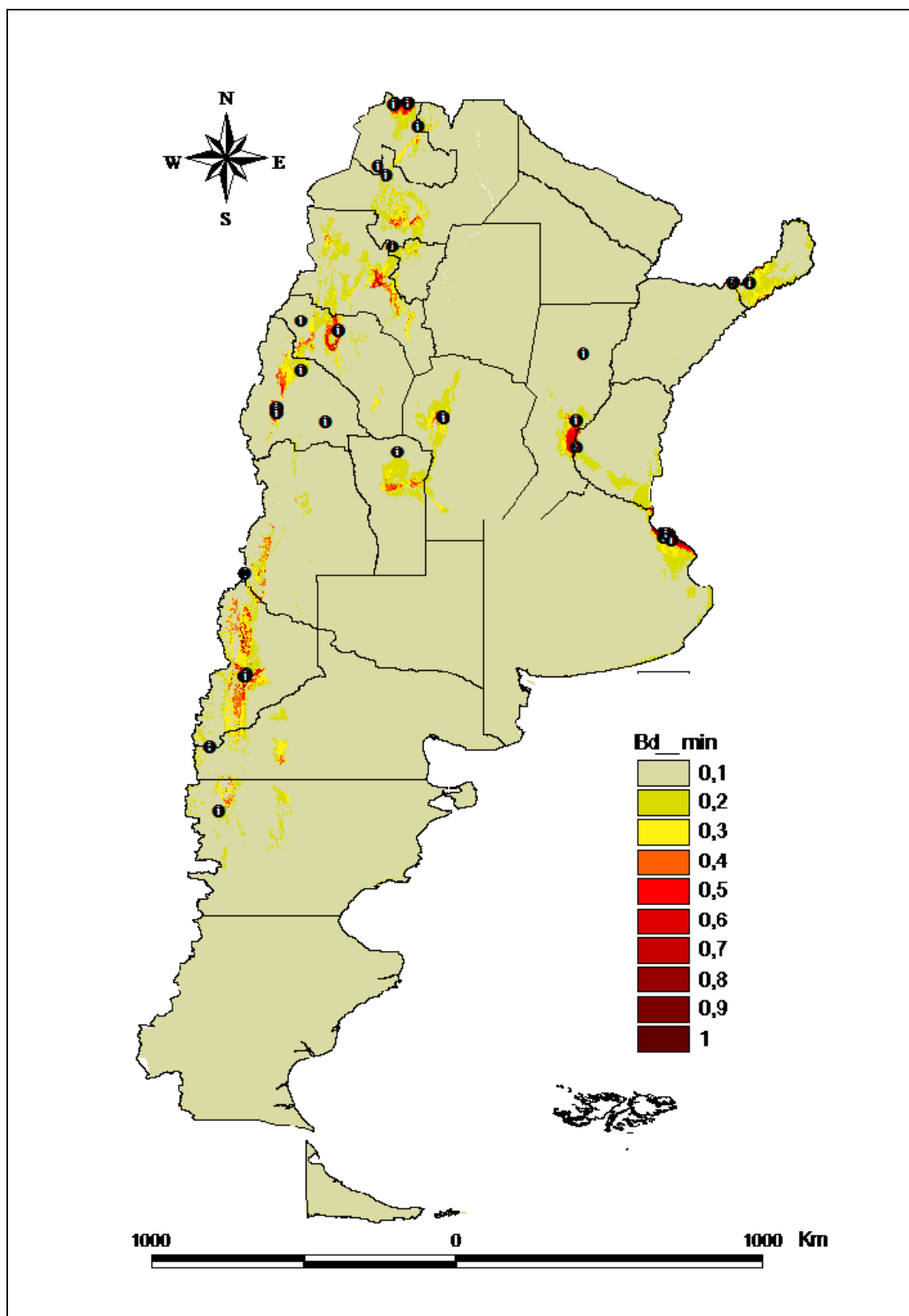


Figura 2a. Bd_{min} . Mapa de salida del modelo elaborado en base a las 10 corridas. Sobre el mapa se indican los puntos de registro de Bd (●).

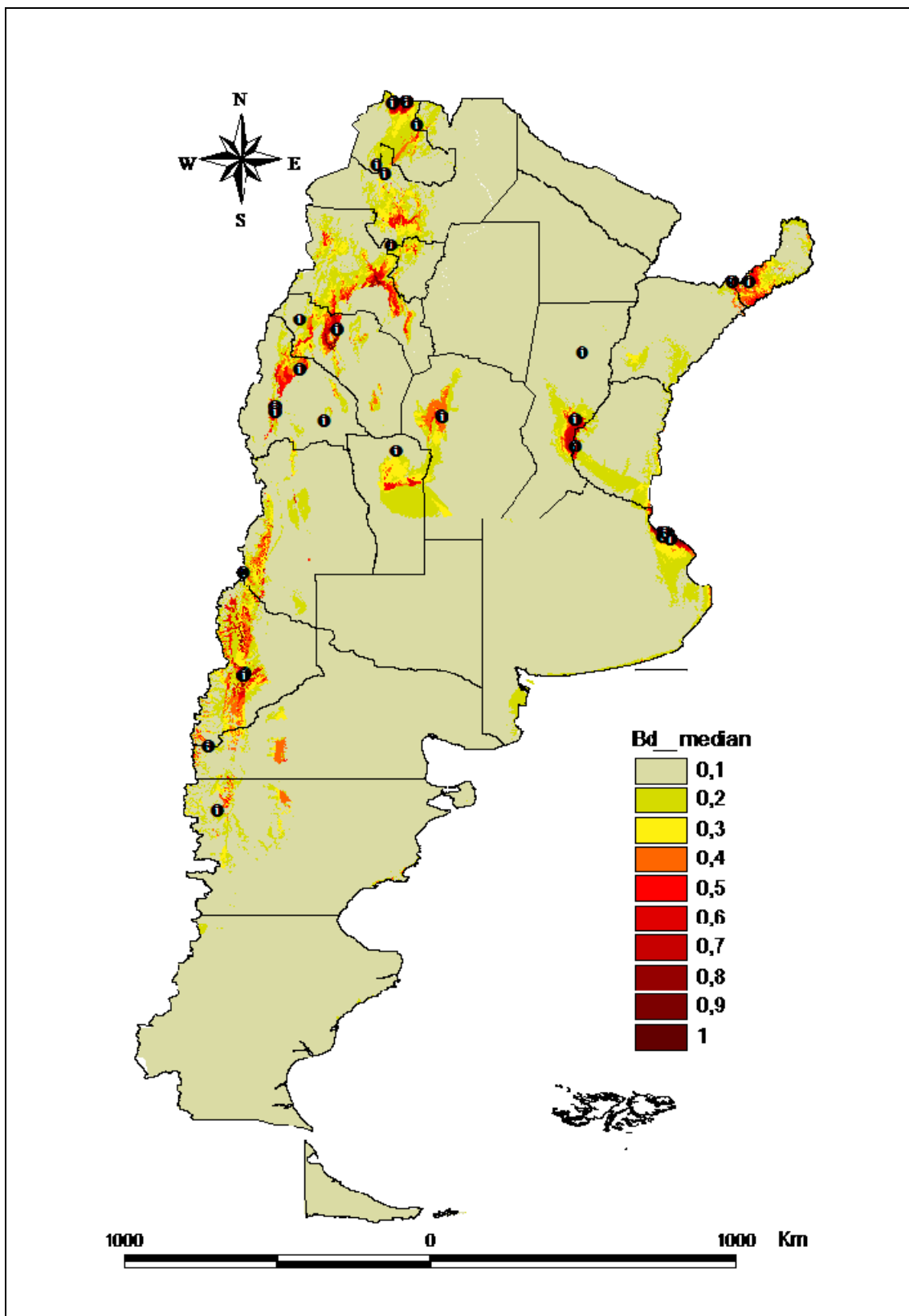


Figura 2b. Bd_{median} . Mapa de salida del modelo elaborado en base a las 10 corridas. Sobre el mapa se indican los puntos de registro de Bd (●).

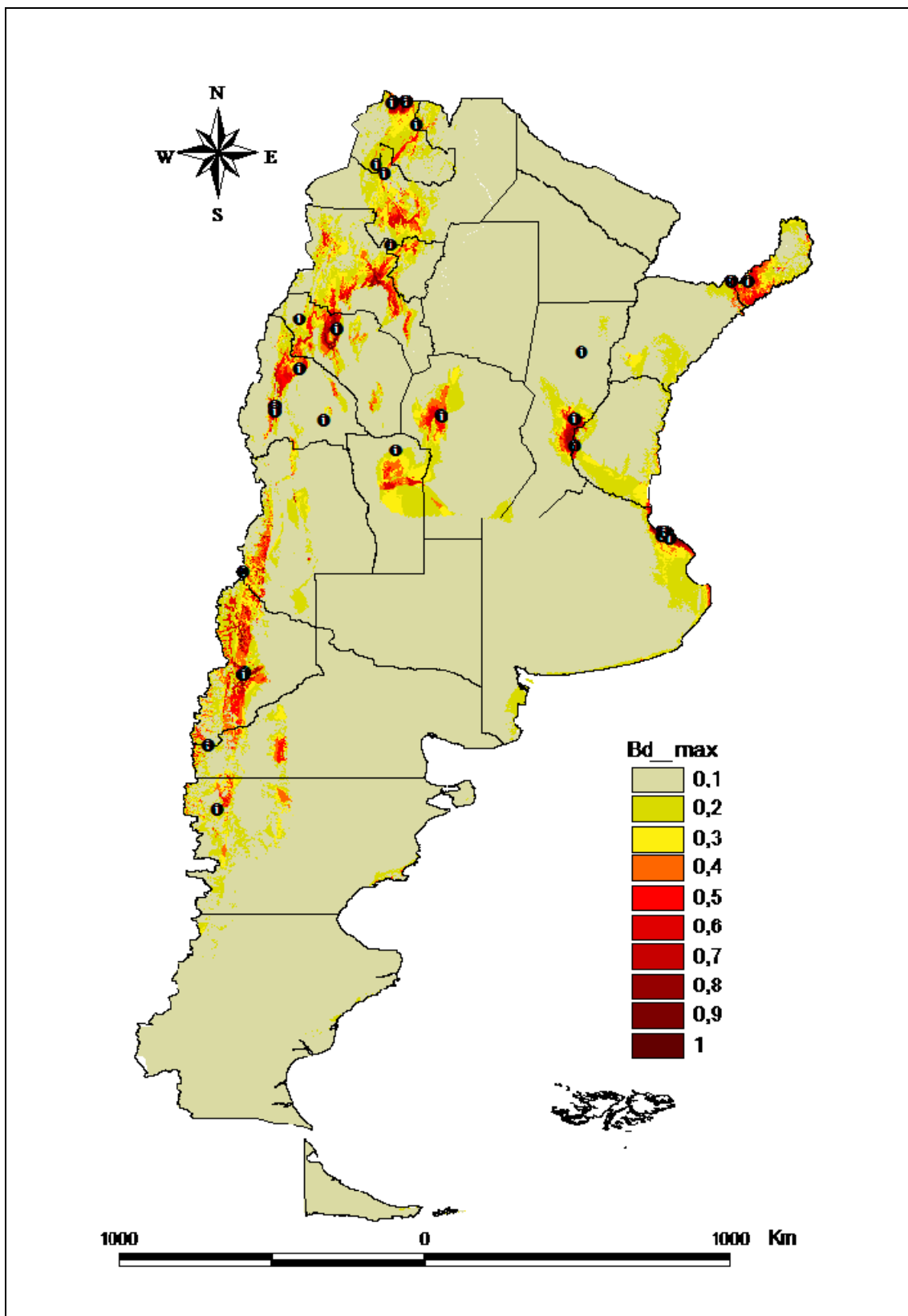


Figura 2c. Bd_{max} . Mapa de salida del modelo elaborado en base a las 10 corridas. Sobre el mapa se indican los puntos de registro de Bd (●).

En los tres mapas, más del 50% de los puntos se encuentra en áreas predichas de condiciones ambientales favorables para el desarrollo de *Bd* (Figura 2a, 2b y 2c, Anexo: Tabla 2). En *Bd_min*, un 14% de los puntos caen en un Índice de Solapamiento (IS) $<0,1$. Uno de esos puntos corresponde a un registro en *Leptodactylus chaquensis*, encontrado en la provincia de Santa Fe (un bañado que se encuentra a 10km al noroeste de la localidad de La Gallareta), otro corresponde a un registro en un ejemplar de *Elachistocleis bicolor* encontrado muerto sobre la Ruta Provincial N° 12, a pocos km de la ciudad de Posadas (provincia de Misiones) (Arellano *et al.* 2009) y otros dos de los puntos pertenecen a los registros de *Bd* en *Alsodes pehuenche* de la provincia de Mendoza. Del resto de los puntos, un 29% cae en $0,1 < IS < 0,7$ y un 57% de los puntos (pertenecientes a las provincias de Buenos Aires, Jujuy y Neuquén) se encontró en un área con $IS > 0,7$.

Para *Bd_median* sólo un 2,3% de los puntos cae en un $IS < 0,1$ (un registro para la provincia de Jujuy en un ejemplar de *Rhinella arenarum* colectado en un arroyo al sur de Puesto Sey, en la provincia de Jujuy y el mismo registro que en *Bd_min* para la provincia de Santa Fe); un 32,2% de los registros cae en $0,1 < IS < 0,7$ y un 65,5% de los puntos se encontró en un área con $IS > 0,7$ (en las mismas provincias citadas para *Bd_min* y en la provincia de La Rioja) (Figura 2a, 2b y 2c, Anexo: Tabla 2). Por último, en el mapa modelado de mayor probabilidad (*Bd_max*), sólo un 1% de los puntos cae en un $IS < 0,1$ (el mismo registro de la provincia de Santa Fe); un 28% cae en $0,1 < IS < 0,7$ y un 71% de los puntos se encontró en un área con $IS > 0,7$ (todas las provincias de *Bd_median* además de la provincia de Santa Fe) (Figura 2a, 2b y 2c, Anexo: Tabla 2).

Según el índice de solapamiento, en los tres mapas se pueden agrupar un conjunto de provincias con condiciones ambientales más favorables para el desarrollo de *Bd*. En el mapa de *Bd_min*, las provincias con mayor probabilidad de desarrollo de *Bd* ($IS > 0,7$) son Neuquén, Jujuy, San Juan y Buenos Aires. En *Bd_median*, a las provincias antes mencionadas se suma la provincia de La Rioja y en *Bd_max* a todas las provincias de *Bd_median* se suma la provincia de Santa Fe (Figura 2a, 2b y 2c, Anexo: Tabla 2)

Por su parte, el análisis de ANOVA realizado para los valores de los tres mapas de salida (*Bd_min*, *Bd_median* y *Bd_max*) utilizando los puntos de registro de *Bd* y los 1000 puntos al azar, arroja diferencias significativas ($p < 0,0001$) entre todos los grupos.

Las áreas predichas por el modelo en las que las condiciones ambientales serían óptimas para el desarrollo del hongo quitridial se encuentran distribuidas en una extensa y diversa gama de ambientes en toda Argentina. En el oeste del país podemos destacar la región de cordillera y precordillera, desde Jujuy hasta el centro norte de Chubut. Hacia el centro del país el noroeste de Córdoba y noreste de San Luis, y hacia el este, una línea que sube por la costa del Río de La Plata, en la provincia de Buenos Aires, y continúa hacia el norte por el río Paraná, ocupando el sur de Entre Ríos en toda su extensión y el centro este de Santa Fe. Además, podemos destacar

un alto índice de solapamiento en el suroeste de la provincia de Corrientes y casi toda la provincia de Misiones (siendo las condiciones ambientales más óptimas para *Bd* en el sur de dicha provincia).

Por otro lado, las áreas con condiciones ambientales desfavorables para el desarrollo de *Bd*, se encuentran distribuidas en el noreste del país e incluyen las provincias de Formosa, Chaco y Santiago del Estero; la provincia de La Pampa en el centro y Santa Cruz y Tierra del Fuego en el sur.

En general, en los tres mapas elaborados, las regiones con características ambientales óptimas para el desarrollo de *Bd* coinciden, siendo más amplias en el mapa *Bd_max*. Cabe destacar que si tomamos como base el mapa *Bd_min* en la región noroeste del país, y toda la región de pre cordillera y cordillera hacia el sur, y la región del litoral fluvial y centro del país coinciden con áreas potenciales de desarrollo de *Bd* y con áreas protegidas de jurisdicción municipal, provincial y nacional. En el mapa de *Bd_median* se suma la región sur de la provincia de Corrientes, el centro de San Luis (en regiones que incluyen Reservas Provinciales (RP) como la RP Floro-Faunística La Florida y RP Islas de los Pájaros y de los Conejos), así como el sur de Mendoza y de la provincia de Buenos Aires. También, aumenta la probabilidad en la región noroeste de Córdoba, a la altura del Parque Nacional Quebrada del Condorito, que abarca una parte de la Pampa de Achala (entre los 1.900 y 2.300 msnm) y las quebradas vecinas sobre el cordón central de las Sierras Grandes de Córdoba.

Por último, si tomamos de base el mapa de *Bd_median*, en el mapa de *Bd_max*, se suma una mancha aislada en el norte de la provincia de Santa Fe, entre los Bajos Submeridionales y el Sitio Ramsar Jaaukanigás.

Variables ambientales

Las áreas donde las variables ambientales generan un clima óptimo para el desarrollo del *Bd* reflejadas en el modelo, se encuentran dispersas por distintas regiones de Argentina y los rangos de dichas variables son muy amplios, con precipitaciones anuales de entre 80mm (San Juan) a más de 1800mm (Misiones) y temperaturas mínimas de -11°C (Jujuy y Mendoza) a máximas de 33,5°C (Santa Fe). El rango de temperatura media anual para los sitios es en promedio de 27°C±2,8°C con una amplitud media diurna de 14,3±2,3°C (Tabla 5) y la altitud pasa de 2msnm en los registros para provincia de Buenos Aires, a 4206msnm en Jujuy.

Tabla 5. Condiciones ambientales para todas las localidades de presencia de *Bd* en Argentina. Las temperaturas se encuentran expresadas en °C, las precipitaciones en mm y la elevación en metros sobre el nivel del mar (msnm). La temperatura estacional representa la desviación estándar de la temperatura media mensual. Min: valor mínimo, Media: valor promedio, Max: valor máximo, DE: desvío estandar.

Variable	Min	Media	Max	DE
"TMedAnual"	2,8	12,0	21,4	4,4
"RangMedDiur"	9,3	14,3	19,5	2,3
"Isoterm"	0,4	0,5	0,6	0,1
"TEstac"	32,5	48,4	64,7	6,2
"TMaxMesC"	14,7	25,6	33,5	4,1
"TMinMesF"	-10,8	-1,5	10,3	5,2
"RangTAnual"	22,0	27,0	32,6	2,8
"TMedEstH"	-3,3	10,8	25,1	8,9
"TMedEstS"	-0,7	11,2	17,1	4,2
"TMedEstC"	7,0	17,4	25,8	4,6
"TMedEstF"	-4,0	5,3	16,2	4,5
"PAnual"	80,0	493,8	1849,0	415,4
"PMesH"	11,0	75,1	225,0	48,1
"PMesS"	0,0	16,1	101,0	22,1
"PEst"	14,0	57,9	110,0	24,1
"PEstH"	30,0	196,1	571,0	124,7
"PEstS"	0,0	53,6	347,0	73,9
"PEstC"	19,0	134,7	438,0	127,7
"PEstF"	0,0	103,1	571,0	106,0
"Elev"	2,0	1428,8	4206,0	1086,0

Para evaluar las variables ambientales que aportan más variación al modelo (aquellas sin las cuales el modelado disminuye su desempeño) se realizó un análisis de Jackknife, representado en la Figura 3. Allí se observan los promedios de la ganancia del modelado para las diferentes variables. La Elevación es la variable que aparece como la que mayor efecto tiene sobre el modelado de nicho de *Bd*, seguida por el Rango Medio Diurno de Temperatura y las variables que representan las temperaturas extremas (TMaxMesC y TMinMesF). Por otro lado, las barras más claras muestran la ganancia de la corrida cuando la variable es omitida, y la variable que más influye en este sentido es la Precipitación Estacional. Lo mismo sucede con el Rango Medio Diurno de Temperaturas y las temperaturas extremas (TMaxMesC y TMinMesF) (Figura 3).

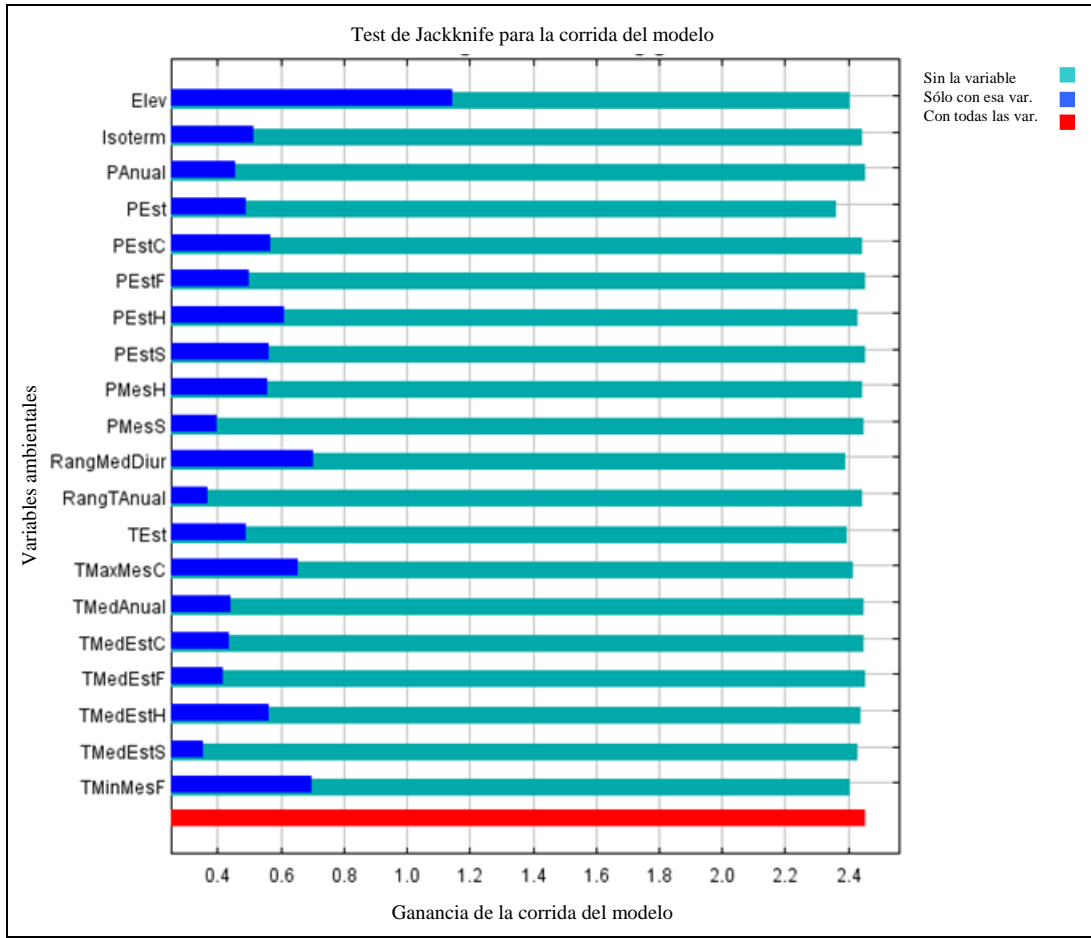


Figura 3. Resultados del test de Jackknife sobre la importancia de las variables ambientales en los datos utilizados para el modelado. Las columnas azules representan la ganancia del modelo cuando se corre el modelo solo con ella. Las columnas celestes representan la ganancia del modelo cuando se corre con todas las variables excepto con la señalada. La columna roja representa la ganancia ideal del modelo.

Como complemento, el MaxEnt calcula la contribución relativa de cada una de las variables ambientales durante el modelado. En este caso se puede destacar que las variables que más aportan al modelado son, en coincidencia con los resultados arrojados por el análisis de Jackknife, la Elevación y el Rango Medio Diurno de Temperatura (Tabla 6). La Temperatura Máxima en el Mes más Cálido así como las Precipitaciones en la Estación más Cálida, también influyen de manera significativa (Tabla 6).

Tabla 6. Contribución porcentual de cada variable al modelo. Para la referencia completa de las variables ver la Tabla 2 de este mismo Capítulo.

Variable	Contribución relativa
“Elev”	25.4
“RangMedDiur”	13.8
“TMaxMesC”	10.4
“PEstC”	9.4
“PEstF”	7.4
“PEst”	6.3
“TEst”	5.4
“TMinMesF”	4.3
“TMedAnual”	4.1
“PEstH”	3.7
“TMedEstH”	2.8
“TMedEstS”	2.6
“RangTAnual”	1.7
“PEstS”	0.8
“PMesH”	0.6
“TMedEstC”	0.4
“Isoterm”	0.3
“PMesS”	0.2
“PAnual”	0.2
“TMedEstF”	0.2

El Análisis de Componentes Principales para los 1000 puntos al azar y los puntos de *Bd*, muestra que las localidades positivas para *Bd* se distribuyen en un amplio rango de las condiciones ambientales disponibles en Argentina (Tabla 7). El Eje I se relacionó positivamente con variables vinculadas a las temperaturas (TMedAnual, TMaxMesC, TMinMesF y TMedEstH, TMedEstC y TMedEstF). Por su lado, el Eje II se relacionó positivamente con las variables vinculadas a las lluvias durante las temporadas de bajas precipitaciones (PMesS, PEstS y PMesF). La variación del Eje III responde principalmente a amplitudes térmicas de ambiente (RangTAnual, TEst y RangMedDiur). Por último, el Eje IV varió de manera negativa con relación a las Isotermas y a las precipitaciones en las estaciones húmedas (Tabla 7).

Tabla 7. Valor propio y porcentaje de variación explicado por los cuatro primeros ejes del Análisis de Componentes Principales (ACP) con Rotación Varimax para las 20 variables ambientales utilizadas y los 1000 puntos al azar a lo largo de Argentina. Los 93 puntos de registro de *Bd* también fueron incluidos. Los datos en negrita representan las variables que más aportan.

	F1	F2	F3	F4
"TMedAnual"	0,976	0,037	0,075	-0,165
"RangMedDiur"	0,094	-0,457	0,765	-0,318
"Isoterm"	0,093	-0,360	0,006	-0,722
"TEst"	-0,041	-0,011	0,849	0,448
"TMaxMesC"	0,929	-0,011	0,296	-0,100
"TMinMesF"	0,925	0,281	-0,146	-0,127
"RangTAnual"	0,159	-0,229	0,945	0,019
"TMedEstH"	0,921	-0,058	0,154	-0,223
"TMedEstS"	0,644	-0,043	-0,422	0,091
"TMedEstC"	0,973	0,007	0,159	-0,114
"TMedEstF"	0,962	0,091	-0,008	-0,209
"PAnual"	0,600	0,580	-0,093	-0,515
"PMesH"	0,622	0,350	-0,140	-0,635
"PMesS"	0,117	0,973	-0,069	-0,070
"PEst"	0,205	-0,742	0,092	-0,478
"PEstH"	0,625	0,344	-0,150	-0,643
"PEstS"	0,158	0,968	-0,074	-0,087
"PEstC"	0,707	0,277	-0,060	-0,571
"PEstF"	0,009	0,877	-0,263	-0,052
"Elev"	-0,556	-0,657	0,156	-0,157
Valor propio	9,490	4,885	2,248	1,405
% varianza	39,392	23,880	13,533	13,338
% acumulado	39,392	63,272	76,806	90,144

En el biplot realizado con los Ejes I y II, que representa más del 60% de la variación climática ambiental del país, podemos destacar una distribución de registros de *Bd* en toda la amplitud ambiental de Argentina (Figura 4). También se pueden detectar algunos grupos de registro en relación a su cercanía en el biplot que responde a la similitud en las variables climático-ambientales que los caracteriza.

En general, los registros de una misma región se hallaron más cercanos debido a la esperable similitud climático-ambiental. En el cuadrante superior izquierdo, podemos ubicar los registros de *Bd* de la zona de precordillerana y cordillerana de las regiones patagónicas y surcuyana. El cuadrante inferior izquierdo forma grupo con registros de la zona noroeste del país, muy relacionados al vector Elevación. En este mismo cuadrante pero más hacia el centro del biplot se distribuyen los registros de la región cuyana y de la estepa norpatagónica, más vinculados a variables ambientales relacionadas con amplitudes térmicas. En el cuadrante superior derecho se agrupan los puntos que se encuentran en el litoral fluvial, principalmente a lo largo del río Paraná. Los registros de Misiones se encuentran más relacionados con vectores ambientales que caracterizan un clima menos estacional en relación a las precipitaciones que los

registros de Buenos Aires y Santa Fe. Por último, en el cuadrante inferior derecho se ubican los registros de la región centro del país, caracterizados por una mayor estacionalidad térmica y pluviométrica que los de la región litoral y más cercanos climático-ambientalmente a los de la región cuyana (Figura 4).

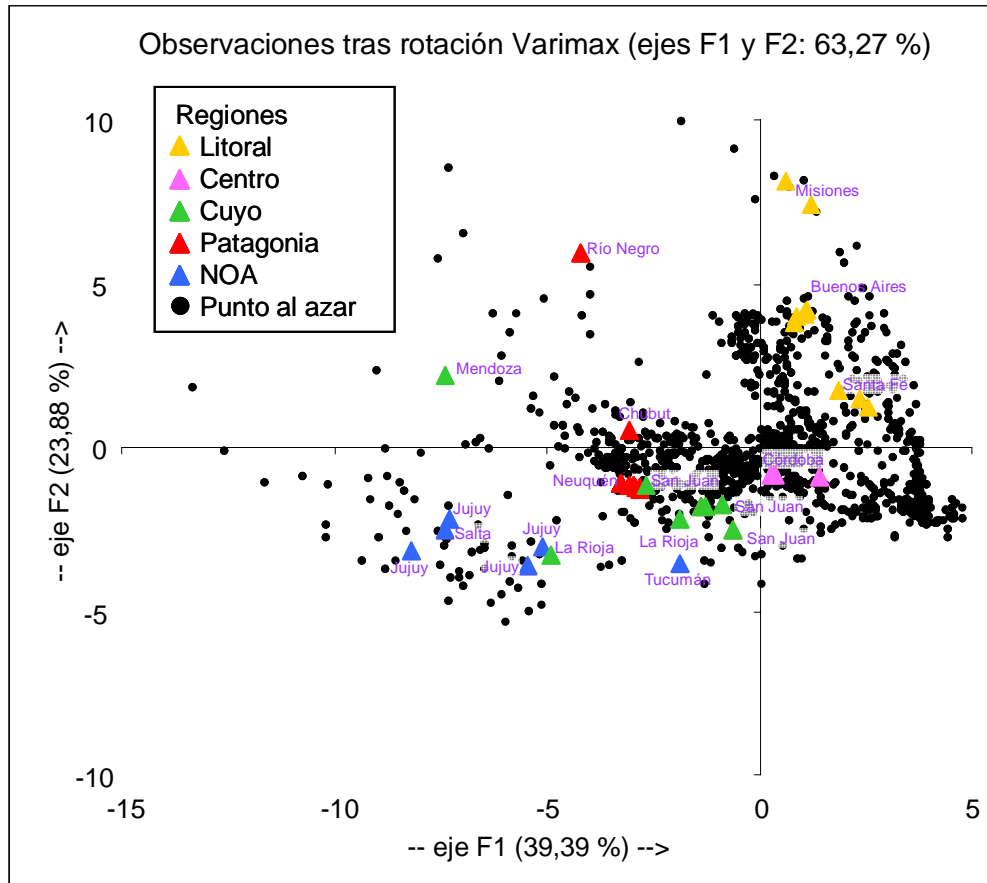


Figura 4. Ejes I y II de ACP con Rotación Varimax basado en las 20 variables ambientales en los 1000 puntos al azar sobre Argentina (círculos negros). La distribución de los círculos negros representa el espacio ambiental disponible en Argentina para *Bd* definido por los ejes I y II del ACP. Los triángulos representan las localidades de presencia de *Bd* y el color agrupa a las localidades de una misma región.

Por otro lado se realizó un Análisis de Componentes Principales sólo con los datos ambientales de los 93 puntos de registro de *Bd* (Tabla 8). En este caso, el Eje I se relacionó principalmente con las variables que representan mayores precipitaciones (PAnual, PEstH, PMesH) y con la Temperatura Estacional. El Eje II varió mayoritariamente en función de las temperaturas (TMedAnual, TMedEstC, TMedEstF y TMaxMesC). El Eje III varió en relación a bajas precipitaciones (PEstF, PEstS y PMesS). Por último, el Eje IV varió de manera positiva con las Isotermas y de manera negativa con la Temperatura Estacional (Tabla 8).

Tabla 8. Valor propio y porcentaje de variación explicado por los cuatro primeros ejes del Análisis de Componentes Principales (ACP) para las 20 variables ambientales y 93 puntos de registro de *Bd*. Los datos en negrita representan las variables que más aportan.

	F1	F2	F3	F4
"TMedAnual"	-0,161	0,968	0,011	-0,020
"RangMedDiur"	0,357	-0,320	-0,786	-0,054
"Isoterm"	0,054	-0,755	-0,329	0,475
"TEstac"	0,842	0,162	-0,076	-0,431
"TMaxMesC"	0,020	0,936	0,197	-0,101
"TMinMesF"	-0,109	0,768	0,558	0,157
"RangTAnual"	0,486	-0,027	-0,720	-0,241
"TMedEstH"	-0,506	0,817	-0,218	0,049
"TMedEstS"	0,477	-0,116	0,701	0,310
"TMedEstC"	0,022	0,946	0,255	-0,079
"TMedEstF"	-0,237	0,937	0,024	0,073
"PAnual"	-0,883	0,145	0,378	-0,076
"PMesH"	-0,925	0,078	0,281	-0,055
"PMesS"	-0,311	0,246	0,892	-0,094
"PEst"	-0,059	-0,601	-0,655	0,079
"PEstH"	-0,916	0,137	0,252	-0,128
"PEstS"	-0,324	0,219	0,893	-0,158
"PEstC"	-0,911	0,344	0,028	0,000
"PEstF"	-0,100	-0,150	0,933	-0,166
"Elev"	0,199	-0,503	-0,789	-0,065
Valor propio	10,012	4,124	3,600	0,663
% varianza	26,067	32,322	30,034	3,574
% acumulado	26,067	58,390	88,424	91,998

En el biplot, los registros sólo de presencia de *Bd* de una misma región también se encuentran agrupados. Se puede observar un grupo en el cuadrante superior izquierdo de los registros que se encuentran a lo largo de la Cuenca del Plata, desde Misiones hasta el Río de La Plata en provincia de Buenos Aires. En este cuadrante se ubican las variables ambientales que tienen que ver con elevadas precipitaciones y temperaturas. Por otro lado, en el cuadrante superior derecho, se puede observar un grupo casi exclusivo de los registros de cuyo, que incluye a las provincias de San Juan y La Rioja. En el cuadrante inferior izquierdo se agrupan los registros de *Bd* que se encontraron a una mayor altitud y con una estacionalidad en las precipitaciones. En el cuadrante inferior derecho se agrupan los registros patagónicos de estepa, con un elevado rango diario de temperaturas (Figura 5).

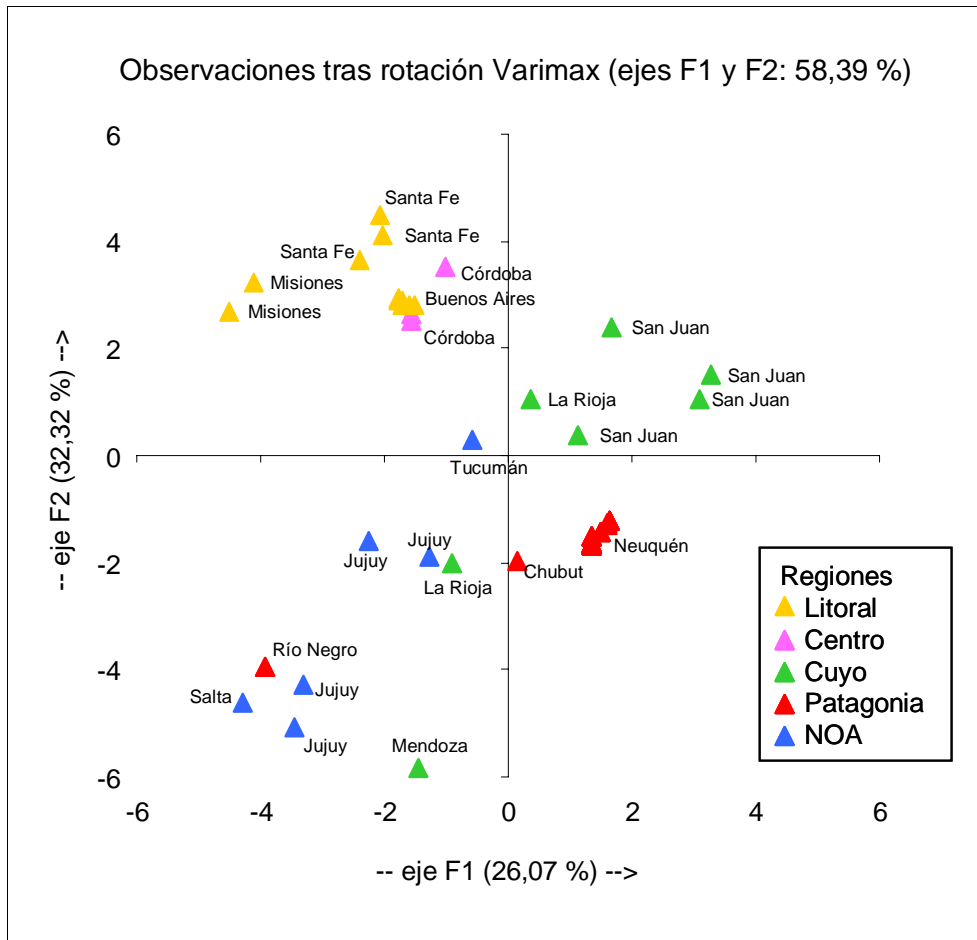


Figura 5. Ejes I y II de ACP basado en las 20 variables ambientales en los 93 puntos de presencia de *Bd*. Los triángulos representan las localidades de presencia de *Bd* y el color agrupa a las localidades de una misma región.

Si evaluamos la caracterización ambiental según las variables ambientales más significativas para los puntos con registro de *Bd* y los 1000 puntos al azar (Fig. 7, 8, 9 y 10), podemos observar que la TMedAnual en los puntos de registros de *Bd* ($12^{\circ}\text{C}\pm 4,4$) difiere significativamente con los valores de los 1000 puntos al azar ($15^{\circ}\text{C}\pm 5,5$) (Mann-Whitney $U=31645,5$, $p<0,0001$). Lo mismo sucede para las precipitaciones, ya que en los puntos de *Bd* la media es de $493,8\text{mm}\pm 415,4$, y en los 1000 puntos al azar es de $605\text{mm}\pm 400,5$ (Mann-Whitney $U=41994,5$, $p=0,012$). En lo que respecta a Elevación, las diferencias también fueron significativas, siendo Elevación para puntos de *Bd* $1428,8\text{msnm}\pm 1086$, mientras que para los 1000 puntos al azar el promedio fue de $631\text{msnm}\pm 951$ (Mann-Whitney $U=71201$, $p<0,0001$). Lo mismo se realizó para las variables que muestran situaciones extremas como TMaxMesC, TMinMesF, PMesH y PMesS. Para todas las muestras la diferencia entre medias fue significativa (Mann-Whitney $U=29458,5$, $p<0,0001$; Mann-Whitney $U=31204$, $p<0,0001$; Mann-Whitney $U=41436$, $p=0,007$ respectivamente) excepto para PMesH (Mann-Whitney $U=46560$, $p=0,304$).

Por otro lado, con los análisis de correlación entre las diferentes variables ambientales se obtuvieron los siguientes resultados: entre la TMedAnual y la PAnual la correlación de Spearman arrojó un valor de $r=0,2997$ ($p=0,0035$) (Figura 6). En la Figura 7, donde se relaciona la Elev con la TMedAnual, el valor de correlación fue, $r=-0,5207$ ($p<0,0001$). En lo que respecta a la relación entre las temperaturas extremas (Figura 8), se ha obtenido una correlación alta y extremadamente significativa ($r=0,7947$; $p<0,0001$) y para las precipitaciones extremas se obtuvo una correlación de $r=0,5629$ ($p<0,0001$) (Figura 9).

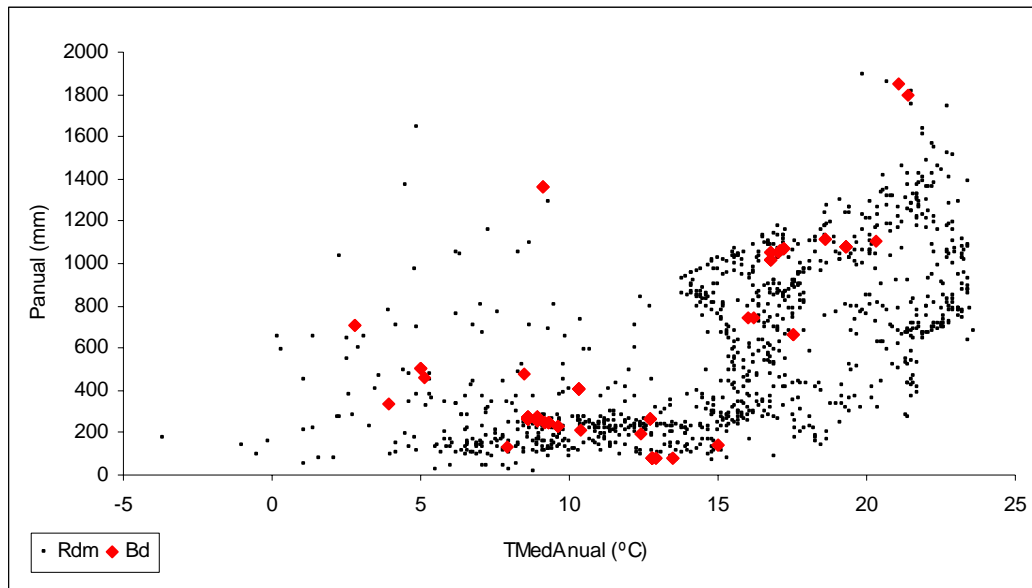


Figura 6. Caracterización ambiental de Argentina en función a la PAnual y la TMedAnual. Los puntos negros representan los 1000 puntos al azar y los rojos los registros de *Bd*.

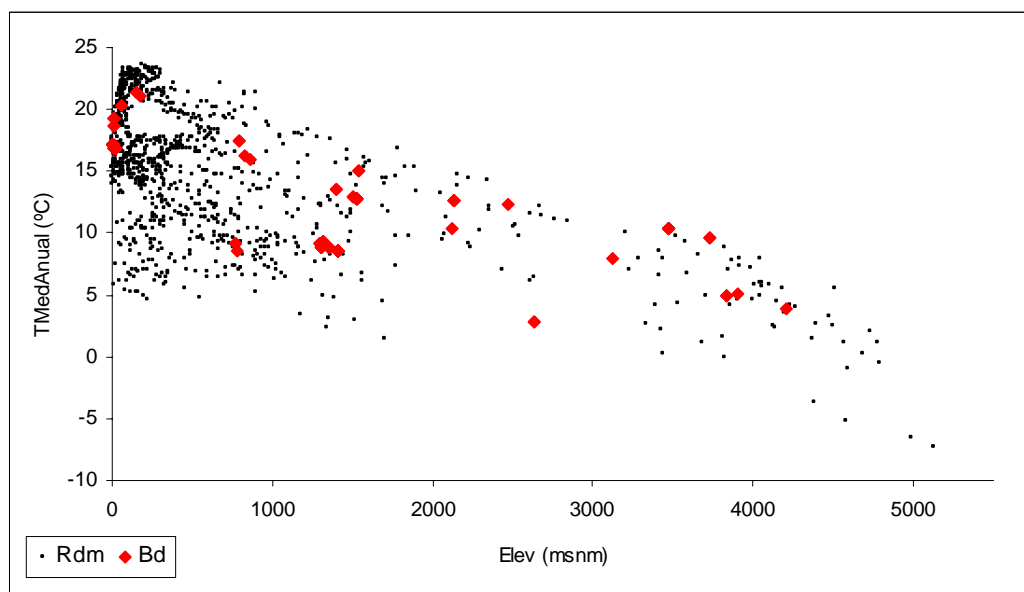


Figura 7. Caracterización ambiental de Argentina en función a la Elev y la TMedAnual. Los puntos negros representan los 1000 puntos al azar y los rojos los registros de *Bd*.

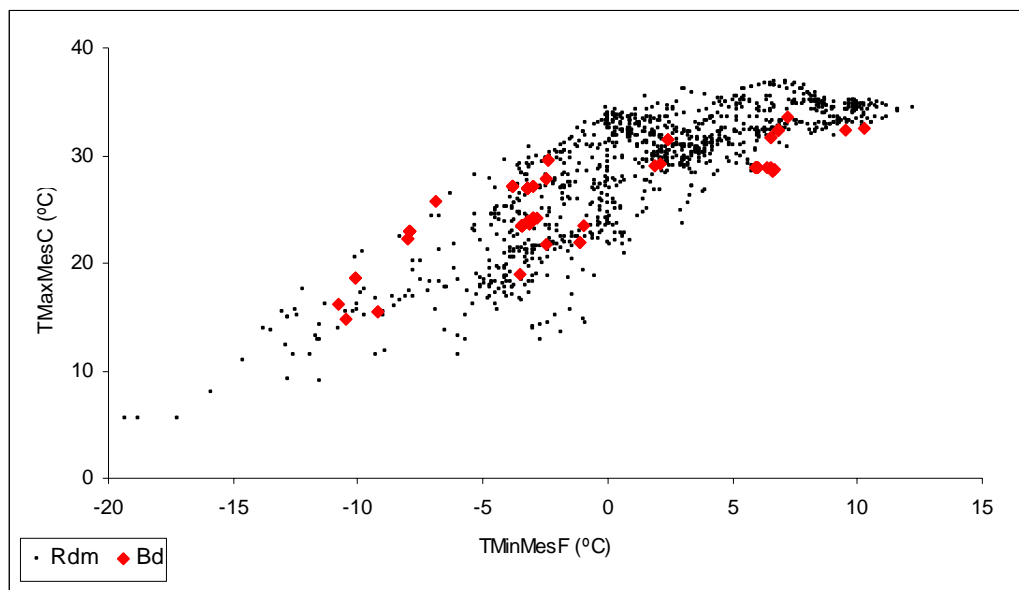


Figura 8. Caracterización ambiental de Argentina en función a la TMinMesF y la TMaxMesC. Los puntos representan los 1000 puntos al azar y los rojos son los registros de *Bd*.

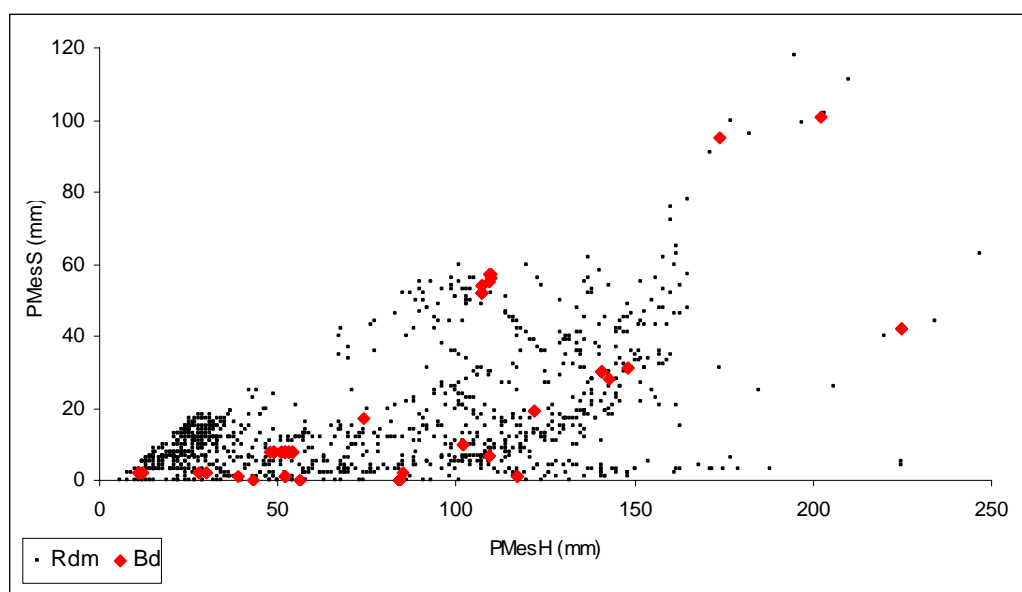


Figura 9. Caracterización ambiental de Argentina en función a la PMesH y la PMesS. Los puntos representan los 1000 puntos al azar y los rojos son los registros de *Bd*.

DISCUSIÓN

El mapa

La extensa superficie de Argentina y sus características topográficas brindan una única y amplia variedad de climas, patrones de vegetación y ambientes acuáticos, que ofrecen una gran diversidad de hábitats. En este sentido, los programas de modelado de nicho pueden resultar una herramienta interesante a la hora de producir hipótesis preliminares acerca de la distribución de especies raras, insuficientemente conocidas o exóticas, ya que pueden constituir la única información disponible sobre estas especies (Peterson y Vieglais 2001).

En este estudio utilizamos puntos de ocurrencia de *Bd* para crear hipótesis de distribución potencial del mismo, herramienta que emerge como un dato importante para conocer dónde y cuándo focalizar esfuerzos de búsqueda de este hongo que está afectando de manera negativa a numerosas poblaciones de anfibios a nivel global, y para determinar si las hipótesis de distribución generadas caen en áreas susceptibles para los anfibios, ya sea por la riqueza de especies, por la presencia de endemismos, etc.

Los resultados del modelado de nicho para *Bd* realizado por Ron (2005) y por Rödder *et al.* (2009) fueron de una importancia crítica a la hora de su publicación, motivando inventarios y búsquedas en regiones previamente inexploradas (Carnaval *et al.* 2006, Puschendorf *et al.* 2006) y relacionando sitios de emergencia de *Bd* con especies susceptibles. Sin embargo, los modelos fueron desarrollados sobre una extensión geográfica muy amplia en relación a la cantidad de registros de *Bd* utilizados, y empleando una baja resolución (2,5 minutos), lo que no permitió un estudio a escala reducida (Puschendorf *et al.* 2009).

Actualmente se sigue acumulando evidencia del efecto negativo que tiene la quitridiomycosis sobre las poblaciones de anfibios, pero aún no se conocen en detalle los requerimientos para la supervivencia del hongo quitridial. Debido a esto se ha vuelto evidente y necesario en diferentes regiones del planeta, el uso de modelado de nicho con mayor resolución espacial como herramienta para predecir áreas óptimas para el desarrollo de *Bd* (Puschendorf *et al.* 2009), y principalmente en regiones topográficamente tan complejas como Argentina. En este trabajo, para la elaboración del modelo, se utilizaron mapas de alta resolución (30 arcsec) y un importante número de puntos de presencia de *Bd* en función del área geográfica estudiada en comparación con los trabajos antes mencionados de Ron (2005) y Rödder *et al.* (2009).

Entre todos los programas de modelado de nicho, actualmente un número creciente de estudios demuestran que MaxEnt tiene el mejor desempeño a la hora de modelar con datos de presencia (Phillips *et al.* 2006, Puschendorf *et al.* 2009). A pesar de ello, no hay que dejar de tener en cuenta que los modelos están sujetos a dos tipos claros de errores: errores de comisión (falsos positivos) y errores de omisión (falsos negativos). Los muestreos parciales o incompletos

tienden a incrementar los errores de omisión, por lo que el nicho puede estar subestimado. Otro modo de generar errores de omisión y comisión en la construcción de los modelos es mediante la no inclusión de variables ambientales importantes para definir el nicho fundamental de la especie. En este caso, teniendo en cuenta que en el programa utilizado para este estudio el resultado obtenido es más estable cuando se utilizan variables correlacionadas (Edith y Leathwick 2009b), no hubo necesidad de remover dichas variables, por lo que se utilizaron las 20 capas ambientales disponibles, que cubren un amplio rango de la caracterización climática de un sitio.

Por otro lado, además de las variables climáticas y topográficas, en general para el modelado no se consideran cuestiones biológicas como relaciones inter o intraespecíficas o la ausencia del hospedador en el caso de los parásitos (Ron 2005). En este sentido, los análisis del resultado de los mapas de salida de estos programas tienen que realizarse con mucho cuidado y teniendo en cuenta este tipo de omisiones.

Cabe mencionar que con algunos registros de *Bd* se ha realizado el modelado del hongo para Argentina con el programa GARP (Ghirardi *et al.* 2011). En el mismo se utilizaron 15 capas ambientales que no incluyen relaciones intra o interespecíficas ni presencia de anfibios, obteniéndose un mapa en el que, por ejemplo, la provincia de Tierra del Fuego tiene una probabilidad de desarrollo de *Bd* mayor a 0,2 aunque no hay anfibios en esa provincia (Ceï 1980; Lavilla y Ceï 2001) que puedan ser parasitados por el hongo. Si bien la probabilidad es baja, biológicamente no tiene relevancia pues es sabido que en esa área no está documentada la presencia de anfibios, por lo tanto se resalta la necesidad de tener en cuenta este tipo de omisiones a la hora de analizar los resultados del modelado.

Evidencia reciente sugiere que *Bd* podría ser capaz de producir una espora de resistencia a la desecación (Morgan *et al.* 2007). La habilidad de sobrevivir como saprófito y la producción de un estado de reposo podría incrementar el potencial de *Bd* de ocupar rangos más amplios de hábitats independientemente de la presencia o no de los anfibios (Hossack *et al.* 2009, Kilpatrick *et al.* 2010). Esto sugiere que, tal vez en un futuro, la predicción generada para Tierra del Fuego (Ghirardi *et al.* 2011) no sea inadecuada, una vez que se tenga en claro el ciclo biológico del hongo, evidenciando una vez más que es necesario evaluar con prudencia los mapas de modelado, y además mantener actualizados los conocimientos referidos a los requerimientos ambientales de las especies estudiadas.

Por otro lado, cabe destacar que los parásitos ofrecen un problema a la hora de modelar su distribución, ya que en el caso que parasiten a hospedadores vágiles, podrían ser colectados en áreas lejanas a aquella en la que se realizó el contagio (Hoberg 1996). Sin embargo en este caso creemos que este elemento no afecta de manera significativa este estudio, ya que el movimiento de los anfibios, en general es limitado, en función de los requerimientos del hábitat que presentan, como presencia de cuerpos de agua para completar todo su ciclo de vida.

A pesar de los posibles errores que la predicción obtenida pudiera tener, el resultado final del modelado para *Bd* de este trabajo muestra un alto poder predictivo para Argentina, ya que la mayoría de los registros del hongo concuerdan con regiones de alta probabilidad, lo que sugiere un bajo error de omisión. Este resultado junto a otros estudios que han llegado a resultados similares han demostrado un alto poder predictivo de modelados para *Bd* (Ortega-Huerta y Peterson 2004, Peterson y Vieglais 2001, Peterson 2003, Ron 2005).

En los mapas obtenidos en este trabajo se refleja una zona de alta probabilidad de *Bd* que coincide en su mayor parte con las regiones aledañas a las zonas de los registros actuales. Sin embargo, cabe destacar que la falta de estudios en algunas provincias argentinas puede llevar a una subestimación de los sitios reales y las zonas potenciales de presencia del hongo en el país. Por otro lado, hasta ahora no se han registrado mortalidades en masa de anfibios en ningún punto del país. Sí se han reportado declinaciones de algunas poblaciones o especies como *Telmatobius* spp (en la zona de precordillera del noroeste de Argentina) (Barrionuevo y Ponssa 2008) y *Rhinella achalensis* en la zona de Pampa de Achala, Provincia de Córdoba (Lescano com. pers.), con registro de *Bd* en los anuros. Pero no hay evidencia suficiente como para afirmar que esas declinaciones poblacionales fueron causadas por un brote de la enfermedad fúngica.

Las regiones con mayor probabilidad de desarrollo y crecimiento de *Bd* a nivel global y de acuerdo a modelados previos a este trabajo, incluyen tipos de hábitat que tienen la más diversa fauna de anfibios (Ron 2005, Rödder *et al.* 2009). En los resultados arrojados por MaxEnt en este trabajo se evidencian climas relativamente óptimos para el desarrollo de *Bd* en varias regiones de especial interés para la conservación de anfibios de Argentina. Por un lado, podemos mencionar la zona del litoral fluvial -donde los ríos Paraná y Uruguay forman un corredor faunístico muy importante-, la selva Misionera -que forma parte de uno de los puntos calientes (“hotspots”) de biodiversidad de Sudamérica-, los Esteros del Iberá y los Esteros de Santa Lucía en Corrientes, entre otros.

En la región oeste del país, los ambientes con características climáticas propicias para el desarrollo de *Bd* coinciden con áreas donde habita un reducido número de especies y algunas de ellas con poblaciones únicas, endémicas (*Atelognathus patagonicus*) o micro endémicas (*Alsodes pehuenche*, *Atelognathus nitoi*), o categorizadas dentro de alguno de los grados de riesgo por la UICN (UICN 2010).

Otras regiones, como la zona de provincia de Buenos Aires y hacia al norte, la cuenca del río Paraná, coinciden con el mapa propuesto por Rödder *et al.* (2009), en el que también esos sitios aparecen como de alta probabilidad de desarrollo de *Bd*. Del mismo modo, se presentan áreas en el centro de Argentina, como las sierras de Córdoba y San Luis, y hacia el noroeste la zona del altiplano salteño, contra la cordillera. En ese mismo trabajo, los autores obtienen como probabilidad media para *Bd* la zona del Chaco seco (Formosa, Chaco y Santiago

del Estero), y en la zona de precordillera de Patagonia (Mendoza, Neuquén y Río Negro), lo que coincide con nuestros mapas de distribución y registros de presencia.

A pesar de la extensiva distribución y variedad de hábitats adecuados para *Bd* en el Neotrópico descrita por Ron (2005), hasta el momento, el hongo fue hallado en relativamente pocas localidades. La ausencia de registros según este autor puede ser debida a: (1) fallas en la colonización de este patógeno, (2) hábitats que no resultan aptos para este hongo ó que por interacciones con otras especies no prospera, ó (3) los muestreos son incompletos (Ron 2005).

Si analizamos la primera hipótesis planteada por este autor (ausencia de *Bd* por falla en la colonización en dichas regiones), podría ocurrir entonces que es una consecuencia de que no han llegado las esporas hasta el sitio ó la ausencia de hospedadores susceptibles a la infección. Esta hipótesis resulta difícil de corroborar, debido a que la variedad de sitios y especies es muy grande en las diversas regiones del país y que generan una amplia gama de combinaciones entre sitios y hospedadores posibles para el desarrollo del hongo quitridial.

La hipótesis que plantea ausencia de *Bd* debido a hábitats no aptos puede ser parcialmente soportada en el caso de Argentina. Por un lado, tenemos ambientes donde aún no se ha registrado la presencia de *Bd* pero que tienen condiciones climáticas aptas para el desarrollo del hongo según las características ambientales. Por otro lado, hay sitios en los que las temperaturas y precipitaciones en alguna época del año están fuera de los rangos de preferencia del *Bd* e igualmente se han registrado casos (como la Provincia de Santa Fe, que en verano tiene temperaturas máximas mayores a las toleradas por el hongo).

En Argentina existen huecos importantes respecto a la distribución de *Bd* ya que los muestreos han sido en general de manera casual, pudiendo generar errores en los modelados. En este caso el sesgo respondería principalmente a que las regiones con mayores esfuerzos de muestreo (tanto en número de especies estudiadas como en superficie relevada) se encuentran, en general, cercanas a los sitios donde trabajan los grupos de investigación, o en sitios en los que hay percepciones *a priori* de presencia de *Bd* por las características de los hábitats (como regiones de altura, bajas temperaturas o con declinación de especies), ó por encuentros fortuitos de ejemplares muertos o moribundos que posteriormente fueron analizados para determinar la presencia del hongo. Estos aspectos constituyen el punto inicial para discutir la última hipótesis planteada por Ron (2005). Esa hipótesis, referida a la ausencia de registros de *Bd* por causa de muestreos incompletos puede ser la que mejor explique la situación en Argentina, ya que la búsqueda activa del patógeno en nuestro territorio comenzó recientemente (comparado con otras regiones del planeta, donde se están realizando relevamientos del hongo en anfibios desde hace más de una década). Estos relevamientos en Argentina comenzaron de manera casual, luego de un hallazgo de anfibios adultos muertos que estaban infectados por *Bd* y que fue publicado por Herrera *et al.* (2005). Recién a partir del año 2006 comienzan a aparecer nuevos registros y como consecuencia de muestreos y monitoreos más sistemáticos en nuestro país (Herrera *et al.*

2005, Barrionuevo y Mangione 2006, Fox *et al.* 2006, Ghirardi *et al.* 2009, Agostini *et al.* 2010, Delgado *et al.* 2010).

Sin embargo, aún restan realizar estudios de un gran número de especies nativas de anfibios en un número importante de áreas del territorio nacional. Incluso existen varias provincias en las que no se ha realizado hasta ahora una búsqueda del patógeno (Formosa, Chaco, Santiago del Estero, La Pampa, Tierra del Fuego). En este sentido cabe destacar que cuando el hongo ha sido buscado activamente (como en este trabajo) fue hallado en un elevado porcentaje de las especies (*e.g.* 66,6% -Ghirardi obs. pers.) y de ambientes muestreados (*e.g.* Patagonia: 65,5% -Ghirardi obs. pers.). Esto coincide con lo que plantea Ron (2005) en su trabajo para el Neotrópico (especialmente para América del Sur), en el que afirma que se han hecho pocos esfuerzos para detectar *Bd* en estas regiones pero casi todos los sitios en los que se lo buscó activamente se han encontrado localidades positivas (Berger *et al.* 1998, Bonaccoso *et al.* 2003, Ron 2005).

Por esto es importante destacar el rol fundamental que puede tener el modelado de nicho para una especie como *Bd*, cuya biología y requerimientos son aún poco conocidos y cuya presencia en una variedad de ambientes genera una gran amplitud de sitios de búsqueda. El mapa obtenido en este trabajo sirve como herramienta para focalizar esfuerzos de muestreo en zonas con características ambientales propicias para el desarrollo del hongo y orientar planes de monitoreo en regiones y especies altamente susceptibles, por ejemplo, porque están peligro o porque son microendémicas, y que habitan en los rangos de variables ambientales que son óptimas para el hongo quitridial.

Variables ambientales

Existe un grupo de variables ambientales que han sido señaladas como especialmente relevantes para explicar la presencia de *Bd*. Entre ellas podemos destacar elevadas altitudes, temperaturas máximas bajas y temperaturas mínimas altas, y otras variables que limitan la presencia del hongo en el ambiente como, elevadas temperaturas máximas, muy bajas temperaturas mínimas y excesivas precipitaciones (Longcore *et al.* 1999, Piotrowski *et al.* 2004).

Según numerosos estudios (Longcore *et al.* 1999, Johnson y Speare 2003, Piotrowski *et al.* 2004, Ron 2005) los sitios en regiones más cálidas y secas no son óptimos para el desarrollo de *Bd* y, cuando está presente, las infecciones en los anfibios de estas regiones resultan menos intensas que en los sitios de clima frío y húmedo. Para analizar lo que sucede en Argentina teniendo en cuenta estas premisas, se discuten a continuación las principales variables ambientales examinadas y los efectos que éstas tienen sobre el hongo.

Temperatura: La temperatura afecta la ecología de muchos hongos saprótrofos acuáticos, y algunos quitridiomicetes prosperan con los cambios en las mismas (Sparrow 1968). Según demuestran numerosos estudios realizados en laboratorio (Longcore *et al.* 1999, Puschendorf *et al.* 2006) (Berger *et al.* 1999, 2004), la temperatura óptima de crecimiento de *Bd* es de 23°C, crece bien a 16°C, sobrevive a 4°C pero muere ante situaciones de desecación y a temperaturas mayores de 29°C (Longcore *et al.* 1999, Kilpatrick *et al.* 2010).

Complementariamente, Drew *et al.* (2006) encontraron que el hongo, para prosperar, necesita de una temperatura media máxima de verano inferior a los 30°C, y que a valores por sobre esa temperatura se reduce su supervivencia. En este sentido, el 85% de las localidades en las que se encontró *Bd* en Argentina poseen una TMaxMesC inferior a los 30°C, siendo la media de este parámetro para todos los puntos de 25,6°C. La mayoría de los registros en ambientes donde la TMaxMesC supera los 30°C corresponden a la provincia de Santa Fe, y esto podría indicar una limitante para la explosión de la infección por *Bd* en los anfibios de estas regiones. En los sitios de temperaturas mayores a 30°C, la presencia de *Bd* podría ser explicada por un rechazo activo del hospedador a las altas temperaturas (refugiándose en sitios mas frescos que favorecerían el crecimiento de *Bd*) o por exposiciones temporales y/o subletales (Ron 2005), mientras que, en lugares más frios, algunas especies como el sapo dorado de Panamá (*Atelopus zeteki*) aumentan su temperatura corporal por arriba de su punto normal, produciendo una disminución en el desarrollo del hongo quitridial (Richarda-Zawacki 2009).

Si bien aún no está claro como se da el patrón de la enfermedad en diferentes especies de anfibios y en diferentes hábitats (altitud y latitud), varios estudios de campo sugieren que las bajas temperaturas resultan favorables para el hongo (Woodhams y Alford 2005, Bradley *et al.*, 2002) mientras que el incremento de las mismas tendría un efecto negativo en el desarrollo de *Bd* (Kilpatrick *et al.* 2010). En algunos estudios de laboratorio, en ensayos con distintas cepas, también se sugiere que *Bd* crece mejor y es más patogénico para los anfibios en condiciones de bajas temperaturas (Longcore *et al.* 1999, Berger *et al.* 2004, Piotrowski *et al.* 2004).

En un estudio llevado a cabo en Norteamérica y Australia, se puso en evidencia que la prevalencia de la infección por *Bd* en anfibios es menor en la estación cálida, e inversamente, la mayoría de los eventos de mortalidad se dan en el invierno, cuando las temperaturas son más bajas (Bradley *et al.* 2002, Berger *et al.* 2004, Retallick *et al.* 2004, McDonald *et al.* 2005, Puschendorf *et al.* 2009). Este hecho coincide con hallazgos en las zonas de la costa centro y norte del Pacífico, en Costa Rica.

Kruger y Hero (2007) demostraron que la prevalencia de la quitridiomicosis en una población de anfibios puede variar drásticamente a lo largo del año, con niveles de infección relacionados estrechamente a los cambios climáticos. En su estudio, los picos de la infección se produjeron cuando la temperatura media del aire fue menor a 19,4°C y se mantuvieron altos a 12,3°C (la temperatura media más baja observada durante el muestreo). Es posible que alguna

toxina que produzca *Bd* también sea dependiente de la temperatura (Berger *et al.* 2004). En este sentido, es interesante resaltar que la temperatura media anual en los puntos de registro de *Bd* en Argentina fue de $12\pm 4,4^{\circ}\text{C}$ con un máximo de $21,4^{\circ}\text{C}$, observándose gran coincidencia con el rango de temperaturas óptimas de picos de infección registrados por Kriger *et al.* (2007).

Cabe destacar además, que en los resultados de las variables ambientales extremas extraídos de la salida de mapa para Argentina, las temperaturas extremas (TMaxMesC y TMinMesF) tienen una alta contribución al modelo, apoyando la hipótesis de que la presencia y desarrollo de *Bd* se verían afectadas por este tipo de variables.

Elevación: En muchos países, la mayoría de los reportes de *Bd* y declinación de anfibios se produjeron en altitudes mayores a 500 msnm (Young *et al.* 2001, Puschendorf *et al.* 2009). Inicialmente, estos y otros estudios han llevado a sugerir que *Bd* prospera preferentemente en latitudes correspondientes a regiones montañosas (Drew *et al.* 2006, Burrowes *et al.* 2008, Young *et al.* 2001, Puschendorf *et al.* 2009).

En Costa Rica, por ejemplo, los modelos de distribución generados indican que la mayoría de los sitios por sobre los 500 msnm podrían ser áreas habitables por el hongo. Esto es congruente con patrones locales de declinación de anfibios (Pounds *et al.* 1997, Lips 1998, Bolaños 2002) y con patrones de declinación a lo largo de América Central (Young *et al.* 2001). Sin embargo, no todas las regiones habitables por el hongo están localizadas en sitios elevados. Por ejemplo, se sabe que el hongo coexiste en una población de ranas aparentemente estable en tierras bajas de Costa Rica (Puschendorf *et al.* 2006). En estas áreas los modelos generados por Puschendorf *et al.* (2009) predicen, con alta probabilidad, que el patógeno puede habitar este tipo de sitios. Este dato contrarresta la idea de que *Bd* no es capaz de ocupar y moverse a través de tierras bajas de América Central y del Sur (Lips *et al.* 2008) y llama a una reevaluación de las rutas y patrones espacio-temporales de dispersión del hongo propuestos recientemente para las diversas regiones del globo (Lips *et al.* 2008).

En nuestro estudio registramos algunos casos positivos de *Bd* en altitudes menores a 25msnm (Arellano *et al.* 2006, Agostini *et al.* 2010, Ghirardi obs. pers., Herrera *et al.* 2005). Estas diferencias respecto a las condiciones ambientales entre dos regiones como Argentina (América del Sur) y América Central, en las que se ha encontrado el patógeno pueden deberse a diferentes causas: 1) el hongo es más plástico de lo que inicialmente se creía en relación a las condiciones ambientales en las que puede prosperar; 2) existen diferentes cepas con distintos requerimientos ambientales infectando los anfibios en hábitats diversos (Fischer *et al.* 2009, Goka *et al.* 2009, Walker *et al.* 2010); 3) los muestreos incompletos y poco sistemáticos aún no permiten tener una idea acabada de condiciones ambientales óptimas para el desarrollo de *Bd*.

En este estudio un 21% de los registros de *Bd* fueron encontrados a elevaciones menores a 200msnm, sólo un 7,5% de los registros fueron en poblaciones que habitan entre los 700 y

900msnm y el resto de los registros (71%) ocurrieron en elevaciones superiores a 1200msnm. Sin embargo, hay que destacar que las grandes llanuras de las regiones pampeanas, del espinal y las chaqueñas se encuentran muy escasamente exploradas en relación a la presencia del hongo quitridial.

Los registros del quitridio en las provincias de Buenos Aires y Santa Fe (Herrera *et al.* 2005, Arellano *et al.* 2006, Agostini *et al.* 2010, Ghirardi obs. pers.) sugieren que es posible para este hongo habitar estas llanuras bajas, aunque habría que realizar estudios más profundos para comprender si su patogenicidad resulta menor en estos ambientes y, en todo caso, si eso se debe a la elevación o a las temperaturas y su dinámica anual a estas altitudes (Carnaval *et al.* 2006, Toledo 2006). Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente, podríamos considerar posible la hipótesis sobre la plasticidad del hongo respecto a los ambientes en los que puede prosperar y, por otro lado, como ya se mencionó, apoyar la tercera hipótesis planteada por Ron (2005) (escasez de muestreos que lleven a la necesidad de un mejor conocimiento de los requerimientos reales de *Bd* para su desarrollo).

En cuanto a la hipótesis sobre cepas con diferentes requerimientos ambientales, aún no hay datos suficientes en Argentina para apoyarla o rechazarla.

Precipitaciones: Se esperaría que la presencia del hongo, como patógeno acuático que es (Longcore *et al.* 1999, Ron 2005), se relacione con elevadas precipitaciones. Sin embargo, Kriger y Hero (2007) encontraron una relación negativa entre la lluvia y la prevalencia de *Bd*.

El análisis de los registros de *Bd* en Argentina indica que la precipitación es una variable importante en la caracterización ambiental de las zonas habitadas por el hongo. En el ACP se pudo observar como la contribución de las variables relacionadas a bajas precipitaciones como son PEstS y PEstF (muchas veces coinciden la estación seca con la estación fría) resultan elevadas en las regiones donde prospera el hongo. Sin embargo, Drew *et al.* (2006), no obtuvieron datos estadísticamente significativos sobre la influencia de las precipitaciones en los episodios de quitridiomycosis.

Relación entre las variables ambientales y *Batrachochytrium dendrobatidis*

Como se ha demostrado en varios estudios (Berger *et al.* 1999, Longcore *et al.* 1999, Puschendorf *et al.* 2006), los factores ambientales ejercen influencia en el crecimiento y desarrollo de *Bd*. De esta manera, la combinación entre los efectos de la temperatura sobre el *Bd* y sobre la inmunidad de los anfibios podría causar un incremento en la virulencia de *Bd* y en el grado de manifestación de la quitridiomycosis, y esto se ha visto especialmente a bajas temperaturas (Laurance *et al.* 1996). En el caso de los anfibios, las bajas temperaturas producirían una disminución en la producción de compuestos antimicrobianos y secreciones de

mucosidad en la piel, baja tasa de renovación de las células epiteliales y posiblemente menor capacidad de metabolizar las toxinas producidas por el hongo.

La mayoría de las declinaciones rápidas y/o enigmáticas en las que la quitridiomycosis aparece como causa primaria, ocurrieron en zonas de altura y en regiones tropicales (Stuart *et al.* 2004). Es posible que en zonas tropicales y elevadas, se den actualmente las condiciones climáticas óptimas para *Bd*, mientras que en las zonas bajas y templadas el clima sea muy frío para mantener poblaciones significativas de este hongo ó que las mismas condiciones ambientales generen una disminución en el sistema inmune de los anfibios pudiendo generar situaciones futuras de mayor susceptibilidad a la infección por *Bd*.

Alternativamente, el mayor número de anfibios en declinación en regiones tropicales puede deberse simplemente al hecho de que en esas áreas la riqueza de especies es mayor y están siendo exhaustivamente estudiadas. Como los trópicos tienen mayor diversidad de anfibios que las regiones templadas (Duellman 1999), un mayor número de especies puede desaparecer o declinar en esas regiones (Morrison y Hero 2003).

Si consideramos los factores ambientales a escala más amplia podemos destacar el hallazgo de Pounds *et al.* (2006), quienes en un estudio a gran escala en América Latina encontraron una relación significativa entre años cálidos y la extinción de la rana arlequín - *Atelopus varius*- (Bufonidae: *Atelopus*) mediante simulaciones entre los años 1973 y 2000. Los autores proponen como hipótesis, que el calentamiento climático ha generado condiciones térmicas óptimas para *Bd*. A pesar de que los hallazgos de Kriger y Hero (2007) acerca de que la prevalencia y severidad de la quitridiomycosis se incrementa a medida que disminuye la temperatura puedan parecer contradictorios a los hallazgos de Pounds *et al.* (2006), los dos estudios pueden reconciliarse si los miramos en un contexto dependiente de la altitud. A bajas altitudes, el crecimiento de *Bd* está probablemente limitado por las altas temperaturas del verano, que en muchas regiones tropicales y subtropicales alcanzan niveles letales para el hongo. Por eso, podemos esperar que el calentamiento global reduzca los impactos de la quitridiomycosis en poblaciones de anfibios de esas áreas. Sin embargo, en regiones de montaña y zonas templadas, las temperaturas máximas nunca llegan a niveles letales para *Bd*. En cambio, el crecimiento de *Bd* puede ser limitado primariamente por bajas temperaturas (10°C o menos) las que, aunque no matan al hongo, disminuyen su crecimiento (Piotrowski *et al.* 2004). El calentamiento global, entonces, puede favorecer al hongo quitridial y aumentar la declinación de las poblaciones de anfibios en regiones templadas y disminuir su efecto en zonas tropicales (Harvell *et al.* 2002).

En el mismo trabajo citado anteriormente, Pounds *et al.* (2006) postulan que a menos de 1000msnm y más de 3500msnm las condiciones ambientales no serían propicias para que se den episodios de quitridiomycosis. Sin embargo, en un estudio más reciente, Seimon *et al.* (2007) estudian una población de anuros en la zona cordillerana de Perú, entre los 4500 y 5500msnm

en la que se ha registrado retracciones de los glaciares. Los autores registraron expansión vertical de los rangos de distribución de las especies en respuesta al aumento de las temperaturas en zonas alpinas de alta montaña (Parmesan y Yohe 2003, Halloy et al. 2005). En cinco de los seis sitios analizados hubo registros de Bd en ejemplares de *Telmatobius marmoratus* y *Pleurodema marmoratus* (Seimon et al. 2007).

Por otro lado, se ha registrado el hongo en regiones templadas cercanas a nivel del mar (Herrera et al. 2005, Carnaval et al. 2006, Toledo et al. 2006) en meses de invierno donde las temperaturas son muy bajas, por lo que aún no se puede hablar definitivamente de las condiciones óptimas para presencia de *Bd* en las diversas regiones.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Agostini MG, Natale GS, Burrowes PA. 2010. Presencia, prevalencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* en dos ensambles de anuros de los alrededores de la ciudad de La Plata. XI Congreso Argentino de Herpetología. Libro de Resúmenes. p 9.
- Araújo M, Williams PH. 2000. Selecting areas for species persistence using occurrence data. *Biological Conservation*. 96: 331-345.
- Araújo M, Cabeza M, Thuiller W, Hannah L, Williams PH. 2004. Would climate change drive species out of reserves? An assessment of existing reserve-selection methods. *Global Change Biology*. 10: 1618-1626.
- Arellano ML, Ferraro DP, Steciow MM, Lavilla EO. 2009. Infection by the chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* in the yellow belly frog (*Elachistocleis bicolor*) from Argentina. *Herpetological Journal*. 19: 217-220.
- Arellano ML, Agostini MG, Herrera R, Steciow MM, Lavilla EO, Barrasso D. 2006. Nuevo hallazgo de quitridiomycosis en el noreste de la provincia de Buenos Aires. VII Congreso Argentino de Herpetología. Libro de Resúmenes. p 124.
- Bakkenes M, Alkemade JRM, Ihle F, Leemans R, Latour JB. 2002. Assessing effects of forecasted climate change on the diversity and distribution of European higher plants for 2050. *Global Change Biology*. 8: 390-407.
- Barrionuevo JS, Mangione S. 2006. Chytridiomycosis in two species of *Telmatobius* (Anura: Leptodactylidae) from Argentina. *Diseases of Aquatic Organisms*. 73: 171-174.
- Barrionuevo J, Ponssa ML. 2008. Decline of three species of the genus *Telmatobius* (Anura: Leptodactylidae) from Tucumán province, Argentina. *Herpetologica*. 64: 47-62.
- Berger L, Speare R, Kent A. 1999. Diagnosis of chytridiomycosis in amphibians by histologic examination. World Wide Web file, <http://www.jcu.edu.au/school/phtm/PHTM/frogs/histo/chhisto.htm>,
- Berger L, Speare R, Daszak P, Green D, Cunningham A, Goggin L, Slocombe R, Ragan M, Hyatt A, McDonald K, Hines H, Lips K, Marantelli G, Parkes H. 1998. Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central América. *Proceedings of the National Academy of Science*. 95: 9031-9036.
- Berger L, Speare R, Hines H, Marantelli G, Hyatt A, McDonald K, Skerratt L, Olsen V, Clark J, Gillespie G, Mahony M, Sheppard N, Williams C, Tyler M. 2004. Effect of season and temperature on mortality in amphibians due to chytridiomycosis. *Australian Veterinary Journal*. 82: 31-36.
- Blaustein AR, Root TL, Kiesecker JM, Beldel LK, Olson DH, Green DM. 2003. Amphibian breeding and Climate Change: Reply to Corn. *Conservation Biology*. 17: 626-627.
- Bolaños F. 2002. Anfibios en retirada. *Ambientico*. 103: 12-13.
- Bonaccorso E, Guayasamin J, Méndez D, Speare R. 2003. Chytridiomycosis as a possible cause of population declines in *Atelopus cruciger* (Anura: Bufonidae). *Herpetological Review*. 34: 331-334.
- 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*. 97: 331-337.
- Bradley GA, Rosen PC, Sredl MJ, Jones TR, Longcore JE. 2002. Chytridiomycosis in native Arizona frogs. *Journal of Wildlife Diseases*. 38: 206-212.
- Brown JH, Lomolino MV. 1998. *Biogeography*. 2 Ed. Sinauer, Sunderland.
- Burrowes PA, Longo AV, Joglar RL, Cunningham AA. 2008. Geographic distribution of *Batrachochytrium dendrobatidis* in Puerto Rico. *Herpetological Review* 39: 321-324.
- Carnaval ACOQd, Puschendorf R, Peixoto OL, Verdade VK, Rodrigues MT. 2006. Amphibian chytrid fungus broadly distributed in the Brazilian Atlantic Rain Forest. *EcoHealth*. 2006: 1-8.
- Cei JM. 1980. Amphibians of Argentina. *Monitore Zoologico Italiano. Monografias* 2. 609 pp.
- Cicero C. 2004. Barriers to sympatry between avian sibling species (Paridae: *Beolophus*) in tenuous secondary contact. *Evolution*. 58: 1573-1587.
- Collins JP, Brunner J, Miera V, Parris M, Schock D, Storfer A. 2003. Ecology and evolution of infectious disease. In: Semlitsch R. (ed.). *Amphibian conservation*. Smithsonian Institution Press. Washington, DC.
- Delgado CS, Natale GS, Barraso DA, Herrera RH. 2010. Presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* en *Physalaemus fernandezae* (Anura: Leiuperidae) para Buenos Aires, Argentina. XI Congreso Argentino de Herpetología. Libro de Resúmenes. p 62.

- Deutsch CA, Tweksbury JJ, Huey RB, Sheldon KS, Ghalambor CK, Haak DC, Martin PR. 2008. Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA*. 105: 6668-6672.
- Dick MW. 2001. *Straminipilous Fungi: systematics of the Peronosporomycetes, including accounts of the marine straminipilous protists, the plasmodiophorids, and similar organisms*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers
- Drew A, Allen EJ, Allen LJS. 2006. Analysis of climatic and geographic factors affecting the presence of chytridiomycosis in Australia. *Diseases of Aquatic Organisms*. 68: 245-250.
- Duellman WE, 1999. Global distribution of amphibians: patterns, conservation, and future challenges. En Duellman WE (ed.). *Patterns of distribution of amphibians: a global perspective*. 1-30. Johns Hopkin Univ. Press, Baltimore, Maryland.
- Elith J. 2002. Quantitative methods for modeling species habitat: comparative performance and an application to Australian plants. 39-58. En Ferson S, Burgman M (eds.). *Quantitative methods for conservation biology*. Springer, New York.
- Elith J, Leathwick JR. 2009. The contribution of species distribution modelling to conservation prioritization. En: Moilanen A, Wilson KA, Possingham HP (eds.). *Spatial Conservation Prioritization: Quantitative Methods and Computational Tools* Oxford, UK.
- Elith J, Graham CH, Anderson RP, Dudik M, Ferrier S, Guisan A, Hijmans RJ, Huettmann F, Leathwick JR, Lehmann A, Li J, Lohmann LG, Loiselle BA, Manion G, Moritz C, Nakamura M, Nakazawa Y, Jacob McC. Overton, Peterson AT, Phillips SJ, Richardson K, Scachetti-Pereira R, Schapire RE, Soberón J, Williams S, Wisz MS, Zimmermann NE. 2006. Novel methods improve prediction of species' distributions from occurrence data. *Ecography*. 29: 129-151.
- Ferrier S, Watson G, Pearce J, Drielsma M. 2002. Extended statistical approaches to modelling spatial pattern in biodiversity: the north-east New SouthWales experience. I. Species-level modelling. *Biodiversity and Conservation*. 11: 2275-2307.
- Fielding AH, Bell JF. 1997. A review of methods for the assessment of prediction errors in conservation presence/absence models. *Environmental Conservation*. 24: 38-49.
- Fox S, Greer A, Torres-Cervantes R, Collins P. 2006. First case of ranavirus associated morbidity and mortality in natural populations of the South American frog *Atelognathus patagonicus*. *Diseases of Aquatic Organisms*. 72: 87-92.
- Funk V, Richardson K. 2002. Systematic data in biodiversity studies: use it or lose it. *Systematical Biology*. 51: 303-316.
- Ghirardi R, Perotti MG, Steciow MM, Arellano ML, Natale GS. 2011. Potential distribution of *Batrachochytrium dendrobatidis* in Argentina: implications in amphibian conservation. *Hydrobiologia*. 659: 111-115.
- Ghirardi R, Lescano JN, Longo MS, Robledo G, Steciow MM, Perotti MG. 2009. *Batrachochytrium dendrobatidis* in Argentina: first record in *Leptodactylus gracilis* and another record in *Leptodactylus ocellatus*. *Herpetological Review*. 40: 175-176.
- Goolsby J. 2004. Potential distribution of the invasive old world climbing fern, *Lygodium microphyllum* in north and south América. *Natural Areas Journal*. 24: 351-353.
- Graham C, Moritz C, Williams S. 2006. Habitat history improves prediction of biodiversity in a rainforest fauna. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA*. 103: 632-636.
- Graham CH, Ron S, Santos JC, Schneider CJ, Moritz C. 2004. Integrating phylogenetics and environmental niche models to explore speciation mechanisms in dendrobatid frogs. *Evolution*. 58: 1781-1793.
- Guisan A, Graham CH, Elith J, Huettmann F. 2007 Sensitivity of predictive species distribution models to change in grain size. *Diversity and Distributions*. 13: 332-340.
- Gutierrez FR, Arellano ML, Moreno LE, Natale GS. 2010. *Batrachochytrium dendrobatidis* in Argentina: first record of infection in *Hypsiboas cordobae* and *Odontophrynus occidentalis* tadpoles in San Luis province. *Herpetological Review* 41: 323-325.
- Halloy SRP, Gonzalez JA. 1993. An inverse relationship between frost survival and atmospheric pressure. *Arctic and Alpine Research*. 25: 117-123.
- Hanley JA, McNeil BJ. 1982. The meaning and use of the area under a Receiver Operating Characteristic (ROC) curve. *Radiology*. 143: 29-36.
- Harvell CD, Mitchell CE, Ward JR, Altizer S, Dobson AP, Ostfeld RS, Samuel MD. 2002. Climate warming and disease risks for terrestrial and marine biota. *Science*. 296: 2158-2162.
- Haverkost TR, Gardner SL, Peterson AT. 2010. Predicting the distribution of a parasite using the ecological niche model, GARP. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 81: 895-902.

- Heikkinen R, Luoto M, Araújo M, Virkkala R, Thuiller W, Sykes M. 2006. Methods and uncertainties in bioclimatic envelope modeling under climate change. *Progress in Physical Geography*. 30: 751-777.
- Hernandez PA, Graham CH, Master LL, Albert DL. 2006. The effect of sample size and species characteristics on performance of different species distribution modeling methods. *Ecography*. 29: 773-785.
- Herrera R, Steciow MM, Natale GS. 2005. Chytrid fungus parasitizing the wild amphibian *Leptodactylus ocellatus* (Anura: Leptodactylidae) in Argentina. *Diseases of Aquatic Organisms*. 64: 247-252.
- Hijmans R, Cameron S, Parra J. 2004. Worldclim 1.2. <http://biogeo.berkeley.edu/worldclim/methods.htm>. 14 August 2007. Berkeley MoVZUoC.
- Hoberg EP. 1996. Faunal diversity among avian parasite assemblages: the interaction of history, ecology, and biogeography in marine systems. *Bulletin of the Scandinavian Society of Parasitology*. 6: 65-89.
- Hossack BR, Muths E, Anderson CW, Kirshtein JD, Corn PS. 2009. Distribution limits of *Batrachochytrium dendrobatidis*: a case study in the Rocky Mountains, USA. *Journal of Wildlife Disease*. 45(4): 1198-202.
- Hugall A, Moritz C, Moussalli A, Stanisc J. 2002. Reconciling paleodistribution models and comparative phylogeography in the Wet Tropics rainforest land snail *Gnarosiphia bellendenkerensis* (Brazier 1875). *Proceeding of the National Academy of Sciences USA*. 99: 6112-6117.
- Hutchinson MF. 2004. Anusplin version 4.3. Centre for Resource and Environment Studies. The Australian National University. Canberra, Australia.
- Johnson M, Speare R. 2003. Survival of *Batrachochytrium dendrobatidis* in water: quarantine and control implications. *Emerging Infectious Diseases*. 9: 922-925.
- Kiesecker J, Blaustein A, Belden L. 2001. Complex causes of amphibian population declines. *Nature*. 410: 681-684.
- Kilpatrick AM, Briggs CJ, Daszak P. 2010. The ecology and impact of chytridiomycosis: an emerging disease of amphibians. *Trends in Ecology and Evolution*. 25: 109-118.
- Kruger K, Hero JM. 2007. Large-scale seasonal variation in the prevalence and severity of chytridiomycosis. *Journal of Zoology*. 271: 352-359.
- Kruger K, Hero JM. 2008. Altitudinal distribution of chytrid (*Batrachochytrium dendrobatidis*) infection in subtropical Australian frogs. *Austral Ecology*. 33: 1022-1032.
- Kruger K, Pereoglou F, Hero J-M. 2007. Latitudinal variation in the prevalence and intensity of chytrid (*Batrachochytrium dendrobatidis*) infection in eastern Australia. *Conservatio Biology*. 12: 1280-1290.
- Laurance, W. F., McDonald, K. R., and Speare, R. 1996. Epidemic disease and the catastrophic decline of Australian rainforest frogs. *Conservation Biology* 10: 406-413.
- Lavilla EO, Cei JM. 2001. Amphibians of Argentina. A Second Update, 1987-2000. Monografía XXVII, Museo Regionale di Scienze Naturale, Torino, Italy.
- Lips KR. 1998. Decline of a tropical montane amphibian fauna. *Conservation Biology*. 12: 106-117.
- Lips KR, Diffendorf J, Mendelson JR, III Sears MW. 2008. Riding the wave: reconciling the roles of disease and climate change in amphibian declines. *PLoS Biology*. 6: 441-453.
- Longcore JE, Pessier AP, Nichols DK. 1999. *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov. a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia*. 91: 219-227.
- Mac-Nally R, Fleishman E. 2004. A successful predictive model of species richness based on indicator species. *Conservatio Biology*. 18: 646-654.
- Manel S, Williams HC, Ormerod SJ. 2001. Evaluating presence-absence models in ecology: the need to account for prevalence. *Journal of Applied Ecology*. 38(5): 921-931.
- Matutte B, Storey KB, Knoop FC, Conlon JM. 2000. Induction of synthesis of an antimicrobial peptide in the skin of a freeze-tolerance frog, *Rana sylvatica*, in response to environmental stimuli. *Federation of European Biochemical Societies (FEBS) Letters*. 483: 135-138.
- McDonald K, Mendez D, Muller R, Freeman A, Speare R. 2005. Decline in the prevalence of chytridiomycosis in frog populations in North Queensland, Australia. *Pacific Conservation Biology*. 11: 114-120.
- Morejón FJ. 2009. Predicción de la distribución geográfica potencial de la especie invasora *Rana Toro Americana* (*Lithobates catesbeianus*) en Ecuador. Tesis de Ingeniería en Gestión Ambiental, Universidad Técnica Particular de Loja. 37pp.
- Morgan JAT, Vredenburg VT, Rachowicz LJ, Knapp RA, Stice MJ, Tunstall T, Bingham RE, Parker JM, Longcore JE, Moritz C, Briggs CJ, Taylor JW. 2007. Population genetics of the frog-killing fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Proceedings of the National Academy of Science USA*. 104: 13845-13850.

- Morrison C, Hero JM. 2003. Geographic variation in life-history characteristics of amphibians: a review. *Journal of Animal Ecology*. 72: 270-279.
- Ortega-Huerta MA, Peterson AT. 2004. Modelling spatial patterns of biodiversity in northeastern Mexico. *Diversity and Distributions*. 10: 39-54.
- Parmesan C, Yohe G. 2003. A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature*. 421: 37-42.
- Peterson AT. 2003. Predicting the geography of species' invasions via ecological niche modeling. *Quarterly Review of Biology*. 78: 419-433.
- Peterson AT, Vieglais DA. 2001. Predicting species invasion using ecological niche modelling: new approaches from bioinformatics attack a presing problem. *Bioscience*. 51: 363-371.
- Peterson AT, Bauer JT, Mills JN. 2004a. Ecological and geographic distribution of filovirus disease. *Emerging Infectious Diseases*. 10: 40-47.
- Peterson AT, Martinez-Mayer E, Gonzalez-Salazar C. 2004b. Reconstructing the pleistocene geography of the *Aphelocoma jays* (Corvidae). *Biodiversity Restoration*. 10: 237-246.
- Peterson AT, Sánchez-Cordero V, Beard B, Ramsey JM. 2002. Ecological niche modeling and potential reservoirs for Chagas disease, Mexico. *Emerging Infectious Diseases*. 8: 662-667.
- Phillips S, Anderson R, Schapire R. 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*. 190: 231-259.
- Piotrowski JS, Annis SL, Longcore JE. 2004. Physiology of *Batrachochytrium dendrobatidis*, a chytrid pathogen of amphibians. *Mycologia*. 96: 9-15.
- Pounds JA, Crump M. 1994. Amphibian declines and climate disturbance: the case of the golden toad and the harlequin frog. *Conservation Biology*. 8: 72-85.
- Pounds JA, Puschendorf R. 2004. Clouded futures. *Nature*. 427: 107-109.
- Pounds JA, Fogden MPL, Savage JM, Gorman GC. 1997. Tests of null models for amphibian declines on a tropical mountain. *Conservation Biology*. 11: 1307-1322.
- Pounds JA, Bustamante MR, Coloma LA, Consuegra JA, Fogden MP, Foster PN, La-Marca E, Masters KL, Merino-Viteri A, Puschendorf R, Ron SR, Sánchez-Azofeifa GA, Still CJ, Young BE. 2006. Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming. *Nature*. 439: 161-167.
- Puschendorf R, Bolanos F, Chaves G. 2006. The amphibian chytrid fungus along an altitudinal transect before the first reported declines in Costa Rica. *Biological Conservation*. 132: 136-142.
- Puschendorf R, Carnaval ACOQd, VanDerWal J, Zumbado-Ulate H, Chaves G, Bolaños F, Alford RA. 2009. Distribution models for the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis* in Costa Rica: proposing climatic refuges as a conservation tool. *Diversity and Distributions*. 15: 401-408.
- Retallick RWR, McCallum H, Speare R. 2004. Endemic infection of the amphibian chytrid fungus in a frog community post-decline. *PLoS Biology*. 2: 1965-1971.
- Ricklefs R. 2004. A comprehensive framework for global patterns in biodiversity. *Ecological Letters*. 7: 1-15.
- Rödger D, Veith M, Lötters S. 2008. Environmental gradients explaining the prevalence and intensity of infection with the amphibian chytrid fungus: the host's perspective. *Animal Conservation*. 2008: 1-5.
- Rödger D, Kielgast J, Bielby J, Schmidlein S, Bosch J, Garner TWJ, Veith M, Walker S, Fisher MC, Lötters S. 2009. Global amphibian extinction risk assessment for the panzootic chytrid fungus. *Diversity*. 1: 52-66.
- Rollins-Smith LA, Carey C, Longcore JE. 2002. Activity of antimicrobial skin peptides from ranid frogs against *Batrachochytrium dendrobatidis*, the chytrid fungus associated with global amphibian declines. *Development and Comparative Immunology*. 26: 471-479.
- Ron SR. 2005. Predicting the distribution of the amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* in the new world. *Biotropica*. 37: 209-221.
- Rosenzweig ML. 1995. Species diversity in space and time. Cambridge University Press. 436pp.
- Rushton S, Ormerod S, Kerby G. 2004. New paradigms for modelling species distributions?. *Journal of Applied Ecology*. 41: 193-200.
- Scotts D, Drielsma M. 2003. Developing landscape frameworks for regional conservation planning: an approach integrating fauna spatial distributions and ecological principles. *Pacific Conservation Biology*. 8: 235-254.
- Seimon TA, Seimon A, Daszak P, Halloy SRP, Schloegel LM, Aguilar CA, Sowell P, Hyatt AD, Konecky B, Simmons JE. 2007. Upward range extension of Andean anurans and chytridiomycosis to extreme elevations in response to tropical deglaciation. *Global Change Biology*. 13: 288-299.

- Skov F, Svenning J. 2004. Potential impact of climatic change on the distribution of forest herbs in Europe. *Ecography*. 27: 366-380.
- Stuart SN, Chanson JS, Cox NA, Young BE, Rodrigues ASL, Fischman DL, Waller RW. 2004. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science*. 306: 1783-1786.
- Thomas C, Cameron A, Green RE, Bakkenes M, Beaumont LJ, Collingham YC, Erasmus BFN, Ferreira de Siqueira M, Grainger A, Hannah L, Hughes L, Huntley B, van Jaarsveld AS, Midgley GS, Miles L, Ortega-Huerta MA, Townsend Peterson A, Phillips OL, Williams SE. 2004. Extinction risk from climate change. *Nature*. 427: 145-148.
- Thuiller W, Lavorel S, Araújo MB, Sykes MT, Prentice IC. 2005. Climate change threats to plant diversity in Europe. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA*. 102: 8245-8250.
- Toledo LF, Haddad CFB, Carnaval AOQ, Britto FB. 2006. A Brazilian anuran (*Hylodes magalhaesi*: Leptodactylidae) infected by *Batrachochytrium dendrobatidis*: a conservation concern. *Amphibian and Reptile Conservation*. 4: 17-21.
- UICN. 2010. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.3. Disponible en: www.iucnredlist.org. Último acceso 27 Sept. 2010
- Wiens J, Graham CH. 2005. Niche conservatism: integrating evolution, ecology and conservation biology. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 36: 519-539.
- Wiley EO, McNyset KM, Peterson AT, Robins CR, Stewart AM. 2003. Niche modelling and geographic range predictions in the marine environment using a machinelearning algorithm. *Oceanography*. 16: 120-127.
- Wollan AK, Bakkestuen V, Kausrud H, Gulden G, Halvorsen R. 2008. Modelling and predicting fungal distribution patterns using herbarium data. *Journal of Biogeography*. 35: 2298-2310.
- Woodhams D, Alford R. 2005. Ecology of chytridiomycosis in rainforest stream frog assemblages of tropical Queensland. *Conservation Biology*. 19: 1449-1459.
- Young BE, Lips KR, Reaser JK, Ibáñez R, Salas AW, Cedeño JR, Coloma LA, Ron SR, La-Marca E, Meyer JR, Muñoz A, Bolaños F, Chaves G, Romo D. 2001. Population declines and priorities for amphibian conservation in Latin América. *Conservation Biology*. 15: 1213-1223.
- Zalba S, Sonaglioni M, Belenguer C. 2000. Using a habitat model to assess the risk of invasion by an exotic plant. *Biological Conservation*. 93: 203-208.

CAPITULO V

“... Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor, la electricidad y la energía atómica:
la voluntad ...”
(Albert Einstein)

DISCUSIÓN FINAL Y CONCLUSIONES

Los anfibios constituyen uno de los grupos de vertebrados reconocido como ‘globalmente afectado’ por el impacto humano sobre el planeta (ver Capítulo I: Tabla 1 para mayor detalle de las causas), siendo, además, víctimas de la pandemia “quitridiomycosis”, enfermedad producida por el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis*, uno de los agentes responsables de esta declinación global (Berger *et al.* 1998; Daszak *et al.* 2004; Garner *et al.* 2006; Longcore *et al.* 1999). Sin embargo, esta enfermedad emergente parece afectar de forma diferente a las distintas especies de anfibios (Berger *et al.* 1998, Daszak *et al.* 2004, Kilpatrick *et al.* 2010). En este sentido, salvo por los ejemplares de la especie *Atelognathus patagonicus* encontrados muertos o moribundos en lagunas del Parque Nacional Laguna Blanca (Provincia de Neuquén), en Argentina no se han registrado grandes mortandades directamente atribuidas a la quitridiomycosis, y los individuos de diferentes especies hallados vivos y con diferente grado de infección no evidenciaron signos físicos ni comportamentales derivados de la enfermedad.

Diversos estudios proponen que existe un grupo de variables y características ambientales especialmente relevantes para explicar la presencia de este hongo quitridial (*e.g.* Longcore *et al.* 1999, Piotrowski *et al.* 2004). Entre ellas podemos destacar altitudes elevadas, bajas temperaturas máximas y elevadas temperaturas mínimas; contrariamente, elevadas temperaturas máximas, muy bajas temperaturas mínimas y excesivas precipitaciones limitarían la presencia del hongo (Longcore *et al.* 1999, Piotrowski *et al.* 2004). En los resultados del presente estudio se pudo observar que, de las variables ambientales extremas para los sitios donde se registró al quitridio en el país, las temperaturas extremas (TMaxMesC y TMinMesF) tienen una importante contribución en el modelado del nicho ambiental -ecológico- del hongo, apoyando la hipótesis de que la presencia y desarrollo de *Bd* se ve fuertemente afectada por este tipo de variables. El análisis de las características ambientales de los sitios con registros de *Bd* en Argentina, también indica que la precipitación es importante en la caracterización ambiental de las zonas habitadas por el hongo.

Sin embargo, debe tenerse en cuenta que en casi todas las regiones de Argentina donde se buscó sistemáticamente se registraron anfibios infectados con *Bd* por lo que, considerando la diversidad ambiental que presenta el territorio nacional, el hongo parece poder establecerse y/o

prosperar en ecosistemas bien diferentes, con características geográficas y ambientales bastante heterogéneas. Por ejemplo, contrariamente a lo que se planteaba en los primeros trabajos que intentaban describir las limitaciones ecológicas del hongo y sugerían que el mismo se desarrollaba por encima de ciertas altitudes (Piotrowski *et al.* 2004), los registros del quitridio en llanuras bajas de las Provincias de Buenos Aires y Santa Fe (Herrera *et al.* 2005, Arellano *et al.* 2006, Agostini *et al.* 2010, este trabajo), sugieren que es posible para este hongo habitar a nivel del mar, aunque habría que realizar estudios más profundos para comprender si su patogenicidad resulta menor en estos ambientes y, en todo caso, si eso se debe a la influencia de la variable elevación o a otra variable que pueda estar oscilando de forma correlacionada con la elevación del terreno y afecte la fenología del hongo quitridial. También se debe tener en cuenta que existe aún un gran desconocimiento sobre la diversidad de cepas de *Bd* (quizá tolerantes a diferentes condiciones ambientales y de variada virulencia) que puedan estar distribuidas entre las distintas regiones. En cualquier caso y como lo sugiere la evidencia disponible hasta el momento, es esperable que el *Bd* se encuentre afectando a un elevado número de especies de diferentes linajes filogenéticos.

Adicionalmente, el cambio climático parece haber creado condiciones más favorables para la propagación del hongo quitridial, dado que, al aumentar las temperaturas, se potenció la capa de nubes que cubre las montañas, volviendo más frescos los días y más cálidas las noches (Pounds *et al.* 2006). Además, los anfibios son especialmente sensibles a los pesticidas, la mala calidad del agua, la lluvia ácida y otros contaminantes ambientales (Pierce 1993, Pachmann y Wilburg 1994, Jansen y Healey 2003, Singh y Agrawal 2008, Lajmanovich *et al.* 2011). Al agregarse el cambio climático, que altera procesos ecológicos complejos, incluyendo la dinámica de las enfermedades, pueden existir impactos imprevisibles y a veces significativos sobre las diferentes especies. Los cambios en los factores ambientales pueden alterar la presencia, virulencia o latencia del patógeno, el comportamiento o la resistencia del hospedador, o generar episodios de quitridiomycosis menos predecibles por las interacciones entre los diversos factores (Blaustein y Kiesecker 2002).

Por otro lado, en modelados previos a este trabajo las regiones con mayor probabilidad de desarrollo y crecimiento de *Bd* a nivel global incluían los biomas y ecosistemas donde se encuentra la mayor diversidad de anfibios del planeta (Ron 2005, Rödder *et al.* 2009). En el análisis aquí realizado con el programa MaxEnt, se destacaron climas relativamente óptimos para el desarrollo de *Bd* en varias regiones de especial interés para la conservación en Argentina. Por un lado, podemos mencionar la región del Litoral fluvial -en la que los ríos Paraná y Uruguay forman un corredor faunístico muy importante-, la selva Misionera -que forma parte de uno de los “hotspots” de biodiversidad de Sudamérica-, los Esteros del Iberá y Esteros de Santa Lucía en Corrientes, entre otros.

Para algunos grupos biológicos la presencia de ciertas áreas naturales protegidas puede resultar de gran ayuda para la conservación. Pero los abundantes registros del quitridio en áreas protegidas sugieren que las mismas no constituyen un método efectivo para evitar brotes de la enfermedad fúngica en los anuros, ya que la dispersión de las esporas se puede dar incluso a través de vectores que no tienen que ver directamente con las actividades antrópicas (Lips 1998, Burrowes *et al.* 2008).

Al considerar las diferentes formas y agentes de la dispersión de esporas del quitridio, debemos tener en cuenta el papel importante que puede desarrollar la dispersión por la introducción de especies vectores (Mazzoni *et al.* 2003, Daszak *et al.* 2004), y a tener en cuenta este factor en el análisis de los eventos de brotes de la enfermedad. Lamentablemente, y al no contar con registros adecuados y monitoreos del funcionamiento de los criaderos de ranas en Argentina, particularmente de la exótica *Lithobates catesbeianus*, se desconoce la suerte que corrieron los planteles que quedaron sin control luego del abandono y desarticulación de los criaderos, principalmente durante la segunda mitad de la década del '90 (CITA). Considerando que el registro del hongo quitridial para la Provincia de Santa Fe representa el más antiguo de Argentina y el primer caso de quitridiomycosis en rana toro en el país (Ghirardi *et al.* 2011). Estudiando la prevalencia de *Bd* en las poblaciones asilvestradas de esta especie exótica, la dinámica de las dispersiones y las liberaciones de patógenos asociados al comercio de rana toro, podremos contribuir a entender el rol que juega el comercio de fauna en la introducción y el movimiento de nuevas enfermedades en nuestros ecosistemas.

Aún resta por relevar y muestrear gran parte del territorio nacional y alrededor de dos tercios de las especies nativas de Argentina. Incluso, existen varias provincias en las que, hasta el momento, no se ha realizado ninguna búsqueda del patógeno (*e.g.* Formosa, Chaco, Santiago del Estero, La Pampa). Sin embargo, todo lo expuesto permite sugerir que el hongo *Bd* podría encontrarse infectando a la mayoría de las especies de Argentina y prosperando en una muy amplia variedad de ambientes dentro de la diversidad territorial nacional. En este sentido, este trabajo genera un punto de partida importante, ya que brinda los resultados del primer muestreo sistemático y extenso con el objetivo de evaluar la presencia de *Bd* en el país. Además, se reseña y se organiza la información disponible sobre el tema, se evalúan los factores ambientales y biológicos que podrían estar vinculados a la emergencia de la enfermedad, las posibles fuentes de dispersión y las áreas potenciales de desarrollo del quitridio.

Recomendaciones vinculadas a protocolos para manejo y conservación de anfibios

A nivel Internacional: La declinación global de anfibios registrada en amplias regiones del mundo a partir de 1980 y a tasas alarmantes, generó el inicio de una serie de estudios y propuestas de acciones de diferente índole (control del movimiento de especies, protocolos

sanitarios, etc.) a nivel internacional. En 1990, dentro de la comisión de Supervivencia de las Especies de la UICN se crea la DAPTF (“Declining Amphibian Population Task Force”) con el objetivo de “*determinar la naturaleza, extensión y causas de la declinación de anfibios alrededor del mundo, y para promover medios que permitan detener o revertir estas declinaciones*” (Gascon *et al.* 2007). A partir de esta iniciativa surge la primer evaluación global de anfibios [Global Amphibian Assessment (Stuart *et al.* 2004)] con el fin de entender y mitigar los factores que causan dichas declinaciones.

Las conclusiones a que arriban luego de dicha evaluación llevaron a una nueva reunión en 2005 en Washington D.C., para trabajar en un plan (Amphibian Conservation Action Plan - ACAP-) que responda a las causas reales y actuales de pérdida de anfibios. En esa reunión, los aproximadamente 80 delegados presentes, provenientes de diversas regiones del mundo, reconocieron que se sabía poco sobre las interacciones complejas de todos los factores negativos que generaban declinaciones de anfibios a nivel global y que no podía haber una respuesta única sobre los porque de la extinción de las especies de anfibios reportadas.

El ACAP provee una guía para implementar iniciativas de conservación e investigación en todas las escalas, desde el nivel global hasta el nivel local y proporciona una revisión del estado de los anfibios en el mundo y las acciones necesarias para detener su declinación (Gascon *et al.* 2007).

El ACAP concluyó que, la crisis de extinción de anfibios “requiere una respuesta global, de escala sin precedentes, que abarque desde los gobiernos, corporaciones, sociedad civil y comunidad científica”. Entre las recomendaciones, sugiere la cría en cautiverio de especies que estén en peligro crítico de extinción para asegurar su continuidad. Esto es, porque a pesar de que la atenuación de los factores negativos que generan las declinaciones de anfibios sería una de las soluciones más adecuadas, las declinaciones rápidas y espontáneas de anfibios hacen creer que innumerables especies podrían desaparecer antes de que se encuentre una solución adecuada, por lo que la cría en cautiverio es fuertemente recomendada. El esfuerzo global para desarrollar esos programas está coordinado por el *Arca de los Anfibios* (Amphibian Ark), un esfuerzo conjunto entre la Asociación Mundial de Zoológicos y Acuarios (WAZA), la UICN/SSC, el Grupo de especialistas de Cría en Cautiverio (CBSG) y el Grupo de Especialistas en Anfibios (www.amphibianark.com) (Pessier y Mendelson 2009).

Por otro lado, la Organización Internacional de Epizootias (OIE) publica regularmente el Código de Salud de Animales Acuáticos con el objetivo de certificar la seguridad sanitaria en el comercio internacional de dichos organismos (anfibios, crustáceos, peces y moluscos) y sus productos derivados (Schloegel *et al.* 2010). En 2008, la OIE incluyó dentro de los protocolos para epizootias un capítulo (Cap. 2.1.1.) dedicado a infecciones ocasionadas por *Batrachochytrium dendrobatidis* y ranavirus. En el mismo se hace una reseña de la enfermedad fúngica y se incluyen protocolos de seguridad para desinfección de materiales en trabajos de

campo (todos los protocolos y reactivos a utilizar descriptos en el capítulo están disponibles en el laboratorio de referencia de la OIE). En el mismo se brinda un marco bien establecido para que pueda ser utilizado por las naciones y estados registrados en la Organización Mundial de Comercio (World Trade Organization) a la hora de reportar estas enfermedades (Kilpatrick *et al.* 2010). Por otro lado, hasta la fecha, un número creciente de países desarrollan este tipo de protocolos para comunicar la situación y manejar los diversos aspectos de la enfermedad [e.g. Australia (www.deh.gov.au/biodiversity/threatened/publications/tap/chytrid/), Daszak *et al.* 2001, Hyatt *et al.* 2007); España (Bosch 2001); Estados Unidos (Vredenburg y Briggs 2009), Suiza (Schmidh *et al.* 2009)].

Recomendaciones en Argentina: Teniendo en cuenta la variedad de especies infectadas con *Bd* que han sido reportadas en este trabajo, así como la amplia gama de ambientes también determinando con presencia de *Bd* en Argentina, es difícil plantear una solución que incluya a todas las especies, tanto por su diversidad, como por sus historias de vida y hábitat variados (Dood 2010). En este sentido, cada captura debe ser aprovechada al máximo realizando todos los muestreos posibles para evitar repetir capturas de ese ejemplar u otro de la misma especie. Además, como muchas veces se trabaja con especies amenazadas, la salud y supervivencia de cada individuo es prioridad (Beldomenico *et al.* 2003). Por esto, sobre la base de lo expresado en la literatura y los resultados obtenidos en este trabajo de Tesis, se plantean algunas recomendaciones aplicables en el país:

A los investigadores

1. Continuar con los aislamientos y cultivos de cepas del hongo quitridial registradas en los muestreos de Argentina.
2. Realizar análisis genéticos que nos ayuden a determinar el origen de la/s cepa/s que infecta/n a los anfibios de Argentina.
3. Ampliar los muestreos (en número de especies y superficie/tipo de hábitats relevados) para definir si *Bd* está presente o ausente en hospedadores o en hábitats aparentemente adecuados para su presencia. Este tipo de estudios puede ser muy útil, incluso más que para brindar simples datos de presencia adicionales, para brindar información que puede ser utilizada para estudiar patrones de dispersión (Lips *et al.* 2006) y determinar los factores ambientales que están influenciando la presencia y desarrollo de *Bd*.
4. Analizar el flujo de *Bd* a través del comercio de sus hospedadores y vectores principales (especies nativas y *L. catesbeianus*).
5. Testear en los cuerpos de agua con presencia de *Bd* si otros organismos (aves, insectos, pequeños mamíferos) pueden estar trasladando las esporas y/o talos adheridos en su cuerpo

- y/o incorporados en la materia orgánica flotante de un cuerpo de agua a otros cuerpos de agua a otros cuerpos de agua.
6. Estudiar con mayor detalle el proceso y sintomatología de esta enfermedad emergente en los anuros, para saber con certeza cuales son las causas de muerte de los individuos. Este tipo de estudio debería ser realizado considerando los distintos estadios de desarrollo y abarcando toda la ontogenia de los animales.
 7. Incorporar el conocimiento científico generado sobre la dinámica de esta epidemia y la biología del hongo en planes de educación, dirigidos a los diversos actores sociales: sociedad civil, políticos, otros agentes de gobierno, trabajadores de áreas protegidas y responsables en la toma de decisiones, etc.
 8. Implementar estrategias para minimizar la transmisión de *Bd* en todos los programas de investigación en anfibios. Estas estrategias deberían estar incluidas en los requisitos para obtener permisos de estudios y muestreos en ambientes acuáticos (en Administración de Parques Nacionales -PN-, guías de tránsito de PN, Dirección de Fauna de la Nación o Direcciones Provinciales de Fauna o Ambiente).
 9. Teniendo en cuenta que de los modelos de nicho ecológico emerge que la temperatura es un factor importante para el desarrollo óptimo de *Bd*, habría que estudiar con mayor detalle la relación entre la infección por *Bd* y el efecto de la temperatura en la fisiología de los anfibios.
 10. Considerando que se ha descubierto que el hongo *Bd* puede generar una estructura de resistencia y puede vivir sin la presencia de hospedadores por un tiempo, es necesario ampliar y profundizar los conocimientos en cómo y sobre qué tipo de sustrato (composición, por ej: queratina, quitina, etc.) desarrolla y mantiene esta estructura de resistencia para después propagarse en el ambiente cuando las condiciones se convierten favorables.
 11. Toda la información generada sobre *Bd* debería ser comunicada a la sociedad, y dirigida a un amplio rango de audiencia (docentes y alumnos de escuelas, público en general, políticos, herpetólogos, biólogos, epidemiólogos, etc.). Dentro del mensaje debe darse particular énfasis a la difusión de los factores asociados a la declinación de poblaciones de anfibios, la necesidad de preservarlos, cómo detectar y controlar la enfermedad y de que manera minimizar los riesgos asociados a la translocación de anfibios entre sitios.

A las agencias gubernamentales

12. El SENASA, como organismo contralor, debería realizar pruebas de detección de *Bd* y ranavirus cuando se ingresan al país o se egresan ejemplares de anfibios con diversos fines (sean especies autóctonas o exóticas).
13. A pesar de que las áreas protegidas no resulten una barrera para el *Bd*, es importante que existan y se protejan a las poblaciones vulnerables, ya que especies con una susceptibilidad

media a *Bd* pueden verse afectadas de manera negativa si a la enfermedad se suman otros factores como contaminación ambiental, fragmentación del hábitat o introducción de especies.

14. En el Parque Nacional Laguna Blanca (Neuquén) por ejemplo, se deben mantener aisladas al público las lagunas interiores, y evitar la introducción de peces a esos cuerpos de agua. También podría ser útil vedar algunas de las lagunas al uso de los lugareños, principalmente como abrevaderos de ganado, para que estos animales no actúen como transmisores de esporas/talo del quitridio entre todos los cuerpos agua.
15. Se debe realizar una capacitación de los agentes de áreas protegidas para que conozcan esta problemática y conozcan acerca de las medidas de prevención y control que pueden y deben llevar adelante.
16. Los agentes de Parques Nacionales y Áreas Protegidas Provinciales deben mantener protocolos estrictos de desinfección de la ropa y material de campo cuando hacen sus recorridos de control para evitar la dispersión del hongo (St-Hilaire *et al.* 2009, Schmidt *et al.* 2009). Para esto se podría tomar como guía el protocolo que se realizó y puso en marcha la Administración del Parque Nacional Nahuel Huapi, teniendo en cuenta los resultados emergentes de este trabajo de Tesis Doctoral (Disposición N° 000774, “Como desinfectar el material de campo cuando se trabaja en humedales”) (Anexo: Figura 20).
17. Generar contactos con países en los que haya protocolos de diagnóstico de *Bd* ya estandarizados para aprender de ellos [*e.g.* Australia (Daszak *et al.* 2001)], o coordinar algún tipo de intercambio para que los análisis tengan costos razonables y puedan ser solventados por los interesados en estudios de quitridiomycosis.
18. El/los organismo/s competente/s debería/n monitorear a los ranarios para asegurarnos de que cumplan con las normas de seguridad (tanto con los ejemplares vivos, como sus productos y el agua que utilizan) para no dispersar *Bd*.
19. Se debería entrenar a veterinarios y otros técnicos en los procedimientos de detección de *Bd* ya que en Argentina no hay personal especializado en dicho trabajo.
20. Aprovechando que en Argentina todavía no se produjeron mortandades a gran escala debido a la quitridiomycosis, debería realizarse un plan para respuestas rápidas (infraestructura, protocolos y mecanismos de sustento) para estar preparados para enfrentar una situación de ese tipo. Se podría tomar como ejemplo las acciones de otros países en los que haya sucedido y el protocolo haya tenido éxito (*e.g.* Australia).
21. Algunas instituciones gubernamentales como Secretarías de Ambiente y las entidades educativas deberían colaborar con la publicación de la información obtenida sobre *Bd* y la sensibilización de la sociedad sobre la problemática de la declinación de poblaciones de anfibios, junto con la necesidad de preservarlos.

A los productores de acuicultura y los que comercializan con anfibios y otros organismos acuáticos

22. Se debería educar a los propietarios de los emprendimientos de acuicultura con ranas y a quienes los administran para que se capaciten, de manera de accionar rápidamente ante episodios de mortandades masivas como las que ocurren a menudo en estos establecimientos, con el fin de que puedan determinar si dichas mortandades corresponden a infecciones por *Bd*.
23. Controlar regularmente a los ranarios que funcionan en el país para asegurar:
 - a. La ausencia de *Bd* tanto en los ejemplares en cría como en los ejemplares que comercializan;
 - b. La ausencia de *Bd* en el agua de los piletones de cría.
24. Examinar a los anfibios que se transportan y comercializan para mascotismo utilizando métodos de diagnóstico sensibles y específicos para determinar la prevalencia de *Bd* en las importaciones de ejemplares y sus productos derivados (en caso de pieles y agua).
25. Si ingresan ejemplares muertos al punto de importación u ocurren mortandades en veterinarias u otros establecimientos de venta de anfibios, los ejemplares deben ser retirados y evaluados por posible infección por *Bd*.

Al público en general

26. Se debe alertar a los visitantes de los diversos Parques Nacionales y Provinciales sobre esta enfermedad mediante folletos informativos y, como norma, brindar los elementos de práctica de protocolos sencillos de limpieza del calzado.
27. Generar planes de información, sensibilización y educación destinados a todos los sectores sociales y grupos generacionales. Estos planes deben ser revisados y dirigidos por profesionales de la comunicación para que sean eficaces en la transmisión del mensaje y logren el efecto deseado de concientización social; es decir, no una mera información sobre la problemática sino lograr cambiar las actitudes y el accionar de todas las personas (cada una desde su ámbito) hacia un accionar en pos de comprender el porqué de la importancia de la conservación de los anfibios (como organismos bioindicadores de salud ambiental) y, de manera general, del respeto por un ambiente sano y la preservación de la biodiversidad.

Otros

28. Los anfibios no deben trasladarse y liberarse a distancias mayores de las correspondientes a su capacidad natural de dispersión.
29. La información disponible acerca de *Bd* debería ser difundida en laboratorios de universidades y otras instituciones de investigación. En este aspecto contamos con dos ejemplos: un folleto informativo para el CRUB y Parques Nacionales Delegación Patagonia

- (Anexo: Figura 18) y para la sección de Seguridad e Higiene del INIBIOMA (http://www.comahue-conicet.gob.ar/inibioma/seguridad_higiene.php) (Anexo: Figura 19) y una Disposición de Parques Nacionales (Disposición 00074) sobre “Como desinfectar el material de campo cuando se trabaja en humedales” (Anexo: Figura 20).
30. Los protocolos de seguridad e identificación de *Bd* tienen que ser desarrollados de una manera equilibrada que prevengan la transmisión pero que a la vez permitan la investigación en los diversos sitios.
 31. Desinfectar el equipo de trabajo entre los distintos sitios, y si no puede ser desinfectado ponerlo en una bolsa y utilizar uno nuevo en cada lugar.
 32. Cuando se trabaja en sitios diferentes se debe seguir el siguiente criterio de muestreo: desde sitios de baja prevalencia y densidad del patógeno hacia sitios con mayor prevalencia y densidad (para minimizar la dispersión) y de sitios con especies con altos grados de conservación a sitios con especies con menor grado de conservación (para minimizar el impacto en las poblaciones de anfibios).
 33. Los medios utilizados para la divulgación de la información pueden ser audiovisuales, impresos, Internet, eventos, charlas en escuelas para alumnos y docentes, charlas en zoológicos, museos, etc.

Hoy en día aún resta por relevar y muestrear un extensión considerable del extenso territorio nacional y alrededor de dos tercios de las especies nativas de Argentina. Incluso, existen varias provincias en las que hasta el momento no se ha realizado ninguna búsqueda del patógeno (*e.g.* Formosa, Chaco, Santiago del Estero, La Pampa). Sin embargo, los resultados del extenso muestreo realizado para este trabajo y de los análisis llevados a cabo con las técnicas de modelado de nicho permiten sugerir que el hongo *Bd* podría encontrarse infectando a un amplio porcentaje de las especies de anfibios de Argentina y prosperando en una muy amplia variedad de ambientes dentro de la diversidad territorial nacional. En este sentido, este trabajo sirve como punto de referencia importante, ya que brinda los resultados del primer muestreo sistemático y extenso, geográfica y biológicamente, con el objetivo de evaluar la presencia de *Bd* en el país. Además, se reseña y se organiza la información disponible sobre el tema, se evalúan los factores ambientales y biológicos que podrían estar vinculados a la emergencia de la enfermedad, las posibles fuentes de dispersión y las áreas potenciales de desarrollo del quitridio.

Es sabido que los anfibios están sufriendo declinaciones poblacionales y disminuciones en su distribución a nivel global sin ser Argentina una excepción. Sin embargo, muchas poblaciones de diversas regiones del planeta que otrora se vieron diezgadas por el hongo quitridio actualmente se están recuperando. Esto permite suponer que si cada uno de los agentes involucrados, desde sus posibilidades, colabora en evitar la dispersión y transmisión de esta

enfermedad y mantener protocolos de seguridad tanto en el contacto con anfibios como con los cuerpos de agua donde ellos habitan y se continúa con los estudios para conocer cabalmente la ecología y epidemiología de este patógeno, se podría esperar la recuperación de algunas poblaciones afectadas, o al menos, se podrían delinear pautas y estrategias de manejo y conservación más efectivas. Esta tesis provee información fundamental y modelos que seguro resultarán útiles para alcanzar estas metas.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- Agostini MG, Natale GS, Burrowes PA. 2010. Presencia y prevalencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* en dos ensambles de anuros de los alrededores de la ciudad de La Plata. XI Congreso Argentino de Herpetología. Libro de Resúmenes p. 9.
- Arellano ML, Agostini MG, Herrera R, Steciow MM, Lavilla E, Barraso D. 2006. Nuevo hallazgo de quitridiomycosis en el noreste de la provincia de Buenos Aires. VII Congreso Argentino de Herpetología. Libro de Resúmenes. p 124.
- Beldomenico PM, Antoniazzi LR, Paggi G, Acosta N, Kiener M, Sguerzo W, Perassi R, Camuz Ligios L, Costas L, Macedo A, Bravo C, Acosta L, Reja PK, Requena WH. 2003. Roles de la medicina veterinaria en la biología de la conservación. Sitio Argentino de Producción Animal. p. 1-5.
- Berger L, Speare R, Daszak P, Green DE, Cunningham AA, Goggin CL, Slocombe R, Ragan MA, Hyatt AD, McDonald KR, Hines HB, Lip KR, Marantelli, 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 Science, USA 95: 9031-9036.
- Blaustein AR, Kiesecker JM. 2002. Complexity in conservation. Lessons from the global decline of amphibian populations. Ecological Letters. 5: 597-608.
- Bosch J. 2001. Información básica sobre como reducir el riesgo de transmisión de agentes infecciosos entre ejemplares de anfibios y entre diferentes lugares. www.sosanfibios.org/descargas/Recomendaciones.pdf.
- Briggs CJ, Knapp RA, Vredenburg VT. 2010. 'Enzootic and epizootic dynamics of the chytrid fungal pathogen of amphibians.' Proceedings of the National Academy of Sciences. 107(21): 9695-9700.
- Burrowes PA, Longo AL, Joglar RL, Cunningham AA. 2008. Geographic Distribution of *Batrachochytrium dendrobatidis* in Puerto Rico. Herpetological Review. 39(3): 321-324.
- Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD. 2001. Draft guidelines for international translocation of amphibians with respect to infectious diseases. Attachment 6. En: Speare R, Steering Committee of Getting the Jump on Amphibian Disease. Developing management strategies to control amphibian diseases: Decreasing the risks due to communicable diseases. School of Public Health and Tropical Medicine, James Cook University: Townsville. 2001: 150-156
- Daszak P, Strieby A, Cunningham AA, Longcore JE, Brown CC, Porter D. 2004. Experimental evidence that the bullfrog (*Rana catesbeiana*) is a potential carrier of chytridiomycosis, an emerging fungal disease of amphibians. Herpetol J 14: 201-207.
- Garner TWJ, Perkins M, Govindarajulu P, Seglie D, Walker SJ, Cunningham AA, Fisher MC. 2006. The emerging amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* globally infects introduced populations of the North American bullfrog, *Rana catesbeiana*. Biology Letters 2: 455-459.
- Gascon C, Collins, JP, Moore RD, Church DR, McKay JE, Mendelson JR. III (eds). 2007. *Amphibian Conservation Action Plan*. IUCN/SSC Amphibian Specialist Group. Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 64pp.
- Ghirardi R, López JA, Scarabotti PA, Steciow MM, Perotti MG. 2011. First record of the chytrid fungus in *Lithobates catesbeianus* from Argentina: exotic species and conservation. Revista Mexicana de Biodiversidad. RMB_2056.
- Herrera RA, Steciow MM, Natale GS. 2005. Chytrid fungus parasitizing the wild amphibian *Leptodactylus ocellatus* (Anura: Leptodactylidae) in Argentina. Diseases of Aquatic Organisms 64: 247-252.
- Jansen A, Healey M. 2003. Frog communities and wetland conditions: relationships with grazing by domestic livestock along an Australian floodplain river. Biological Conservation. 109: 207-219.
- Kilpatrick AM, Briggs CJ, Daszak P. 2010. The ecology and impact of chytridiomycosis: an emerging disease of amphibians. Trends in Ecology and Evolution. 25 (2):109-118.
- Lajmanovich RC, Attademo AM, Peltzer PM, Jungues C, Cabagna M. 2011. Toxicity of Four Herbicide Formulations with Glyphosate on *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) Tadpoles: B-esterases and Glutathione S-transferase Inhibitions. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 60: 681-689.
- Lavilla EO. 2008. Declinaciones poblacionales y extinciones en anfibios de Argentina. Comunicación efectuada por el Dr. Esteban O. Lavilla en la Academia Nacional de Ciencias de Buenos Aires en la sesión privada extraordinaria del 20 de noviembre de 2008.
- Lips KR. 1998. Decline of a tropical montane amphibian fauna. Conservation Biology. 12: 106-117.
- Lips KR, Brem F, Brenes R, Reeve JD, Alford RA, Voyles J, Carey C, Livo L, Pessier AP, Collins JP. 2006. Emerging infectious disease and the loss of biodiversity in a Neotropical amphibian community. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 103, 3165-3170.

- Longcore JC, Pessier AP, Nichols DK. 1999. *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia* 91: 219-227.
- Mazzoni R, Cunningham AA, Daszak P, Apolo A, Perdomo E, Speranza G. 2003. Emerging pathogen of amphibians in frogs (*Rana catesbeiana*) farmed for international trade. *Emerging Infectious Diseases*. 9: 995-998.
- Pachmann JHK, Wilburg HM. 1994. Putting declining amphibian population in perspective: natural fluctuations and human impacts. *Herpetologica*. 50: 65-84.
- Pierce BA. 1993. The effects of acid precipitation on amphibians. *Ecotoxicology*. 2 (1): 65-77.
- Piotrowski JS, Annis SL, Longcore JE. 2004. Physiology of *Batrachochytrium dendrobatidis*, a chytrid pathogen of amphibians. *Mycologia*. 96: 9-15.
- Pounds JA, Bustamante MR, Coloma LA, Consuegra JA, Fogden MP, Foster PN, La-Marca E, Masters KL, Merino-Viteri A, Puschendorf R, Ron SR, Sánchez-Azofeifa GA, Still CJ, Young BE. 2006. Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming. *Nature*. 439: 161-167.
- Rödder D, Kielgast J, Bielby J, Schmidtlein S, Bosch J, Garner TWJ, Veith M, Walker S, Fisher MC, Lötters S. 2009. Global amphibian extinction risk assessment for the panzootic chytrid fungus. *Diversity*. 1: 52-66.
- Ron S. 2005. Predicting the distribution of the amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* in the new world. *Biotropica*. 37: 209-221.
- Schmidt BR, Furrer S, Kwett A, Lötters S, Rödder D, Sztatecsny M, Tobler U, Zumbach S. 2009. Disinfection is an action needed to stop the further spread of chytridiomycosis. *Zeitschrift für Feldherpetologie, Supplement*. 15: 229-241.
- Singh A, Agrawal M. 2008. Acid rain and its ecological consequences. *Journal of Environmental Biology*. 29 (1): 15-24.
- St-Hilaire S, Thrush M, Tatarian T, Prasad A, Peeler E. 2009. Tool for estimating the risk of anthropogenic spread of *Batrachochytrium denrobatidis* between water bodies. *EcoHealth* 6: 16-19.
- Stuart SN, Chanson JS, Cox NA, Young BE, Rodrigues ASL, Fischman DL, Waller RW. 2004. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science*. 306: 1783-1786.
- Vredenburg VT, Briggs C. 2009. Protocolo Para Muestras de Quitridio: Método SWAB. www.amphibiaweb.org/chytrid/swabspanish.html.
- Young BE, Lips KR, Reaser JK, Ibanez R, Salas AW, Cedeno JR, Coloma LA, Ron S, La Marca E, Meyer JR, Munoz A, Bolanos F, Chaves G, Romo D. 2001. Population Declines and Priorities for Amphibian Conservation in Latin America. *Conservation Biology*. 15, (5): 1213-1223.
- Zukerman W. 2010. Fungus out! The frog resistance is here. *New Scientist Magazine*. 2790: 14.

ANEXO

Tabla 1. Datos de las especies analizadas. Se detalla la provincia y localidad de colecta junto a sus coordenadas geográficas, el número de ejemplares analizados y los positivos para Bd. En Tamaño se muestra el promedio±desvío de la longitud locico-cloaca en adultos y el largo total en larvas; además para las larvas se brinda entre paréntesis el estadio según Gosner (1960); *: solo se cuenta con la medida de un ejemplar del lote. *nd*: no se cuenta con datos precisos. Se presentan resaltadas en negro especies que resultaron positivas a presencia de *Bd*. En la penúltima columna se detalla el número de colección de los ejemplares analizados. En aquellos muestreos que fueron realizados por colaboradores se incluyen las iniciales de el/los colector/es en la última columna: (AB) Andrés Brunetti, (BB) Boris Blotto, (CA) Cristian Abdala, (ES) Eduardo Sanabria, (FC) Félix Cruz, (G-PNNH) Guardaparques PN Nahuel Huapi, (JAL) Javier A. López, (LM) Lina Moreno, (LS) L. Sosa, (LQ) Lorena Quiroga, (MEC) María Elena Cuello, (MGP) Ma. Gabriela Perotti, (MP) Mariana Pueta, (OM) O. Mamani, (RS) Romina Semhan, (SB) Sebastián Barrionuevo, (SN) Santiago Nenda, (VC) Valeria Corbalán.

Provincia	Especie	L	Tamaño J	A	Técnica	N	N Bd	Sitio	Coordenadas geográficas Longitud (O)	Latitud (S)	Número de colección	Colector
Litoral fluvial												
Corrientes	<i>Leptodactylus bufonius</i>	-	50	-	PCR	1	-	Laguna Perichón	58° 44' 47,8''	27° 25' 55,6''	RG976	
	<i>Physalaemus santafecinicus</i>	<i>nd</i>	23	-		16	-	Laguna Perichón	58° 44' 47,8''	27° 25' 55,6''	RG960 a RG969	
								Laguna Don Luis	58° 44' 47,8''	27° 25' 55,6''	RG949	
								vera de la ruta 1	55° 54' 16,6''	28° 19' 0,65''	RG900 a RG903	
								Arroyo Coaty	55° 39' 16,6''	27° 41' 09,6''	RG904 a RG905	
		<i>Rhinella schneideri</i>	-	95	-		6	-	Laguna Perichón	58° 44' 47,8''	27° 25' 55,6''	RG970 a RG975
	<i>Scinax nasicus</i>	-	21	-		9	-	Laguna Don Luis	58° 44' 47,8''	27° 25' 55,6''	RG951 a Rg959	
Misiones	<i>Dendropsophus minutus</i>	-	-	23,9*	PCR	6	-	laguna del lavadero abandonado	54° 11' 53,6''	27° 17' 07,35''	RG908 a RG911	
								laguna frente al puesto de guardaparque (2° coord paper)	53° 54' 05,1''	27° 09' 11,56''	RG938 a RG939	
	<i>Hypsiboas albopunctatus</i>	-	-	<i>nd</i>		3	-	Posadas, Campus Universitarios	55° 53' 11,3''	27° 26' 03,8''	RG 809 a RG811	

Provincia	Especie	L	Tamaño J	A	Técnica	N	N Bd	Sitio	Coordenadas geográficas Longitud (O) Latitud (S)		Número de colección	Colector
								(sitio 2)				
	<i>Hypsiboas caingua</i>	-	-	32,2±6,7		5	-	Posadas, Campus Universitarios (sitio 2)	55° 53' 11,3''	27° 26' 03,8''	RG833 a RG837	
	<i>Hypsiboas</i> sp.	-	nd	-		3	-	laguna frente al puesto de guardaparque (2° coord paper)	53° 54' 05,1''	27° 09' 11,56''	RG940 a RG942	
	<i>Leptodactylus fuscus</i>	-	44±0,3	-		13	-	vera de la ruta 2 (El Soberbio)	54° 11' 42,3''	27° 17' 34,4''	RG912 a RG916	
								Camping do Marío	54° 11' 42,3''	27° 17' 34,4''	RG919 a RG920; RG924 a RG928	
								barranca del camino al río	53° 53' 28''	27° 09' 04,96''	RG932 a RG933	
	<i>Leptodactylus mystacinus</i>	-	16,2±0,5	52*		7	-	Posadas, vera de la ruta (sitio 1)	56° 01' 43''	27° 26' 37,3''	RG813 a RG814	
								vera de la ruta 2 (El Soberbio)	54° 11' 42,3''	27° 17' 34,4''	RG914	
								Camping do Marío	54° 11' 42,3''	27° 17' 34,4''	RG921 a RG923	
								barranca del camino al río	53° 53' 28''	27° 09' 04,96''	RG931	
	<i>Leptodactylus latrans</i>	-	24,06	-		1	-	Posadas, Campus Universitarios (sitio 2)	55° 53' 11,3''	27° 26' 03,8''	RG830	
	<i>Scinax aff. pinima</i>	-	nd	-		5	-	Posadas, vera de la ruta (sitio 1)	56° 01' 43''	27° 26' 37,3''	RG816 a RG820	
	<i>Scinax fuscovaris</i>	-	nd	43,9±2,7		7	-	Posadas, vera de la ruta (sitio 1)	56° 01' 43''	27° 26' 37,3''	RG821 a RG825	

Provincia	Especie	L	Tamaño J	A	Técnica	N	N Bd	Sitio	Coordenadas geográficas Longitud (O)	Latitud (S)	Número de colección	Colector
								camino al río cerca del puesto de guardaparques, em medio del camino	53° 54' 03,54''	27° 09' 10,24''	RG936	
								laguna frente al puesto de guardaparque (2° coord paper)	53° 54' 05,1''	27° 09' 11,56''	RG937	
	<i>Scinax nasicus</i>	-	16,01	-		1	-	Posadas, vera de la ruta (sitio 1)	56° 01' 43''	27° 26' 37,3''	RG979	
	<i>Scinax squalirostris</i>	-	-	20,8±0,9		3	-	Posadas, Campus Universitarios (sitio 2)	55° 53' 11,3''	27° 26' 03,8''	RG838 a RG840	
	<i>Phyllomedusa sauvagii</i>	-	-	nd		2	-	barranca del camino al río	53° 53' 28''	27° 09' 04,96''	RG934 a RG935	
	<i>Physalaemus sp.</i>	-	-	30,12		1	1	Posadas, Campus Universitarios (sitio 2)	55° 53' 11,3''	27° 26' 03,8''	RG829	
	<i>Pseudopaludicola falcipes</i>	-	-	14,4±1		2	-	Posadas, Campus Universitarios (sitio 2)	55° 53' 11,3''	27° 26' 03,8''	RG831 a RG832	
	<i>Rhinella sp.</i>	-	-	nd		2	-	embarcadero (coordenadas paper)	53° 53' 25,9''	27° 09' 21,2''	RG929	
								Playa río Uruguay	53° 53' 06''	27° 09' 20''	RG930	
Santa Fe	<i>Pseudis paradoxa</i>	nd	-	-	Lupa	5	-	Zona fangosa cerca de Saladero Cabal, Dpto. Garay			MFA ZV 333	

Provincia	Especie	L	Tamaño J	A	Técnica	N	N Bd	Sitio	Coordenadas geográficas Longitud (O) Latitud (S)		Número de colección	Colector
								Recreo, Dpto. La Capital			MFA ZV 235	
								Barrío Centenario, Dpto. La Capital			MFA ZV 330	
								Romang, Dpto San Javier			MFA ZV 47	
								Laguna Plana, cerca de San Javier, Dpto. San Javier			MFA ZV 331	
	<i>Leptodactylus latrans</i>	-	53,05	100,5±4,9	Hist	4	-	Isla Sirgadero, Dpto La Capital	60° 40' 49,65''	31° 38' 43,07''	PL2991 a 2991B; PL2959	JAL
	<i>Ceratophrys candwelli</i>	-	-	58,5±5,5	PCR	3	-	Campamento 1 - estero 10Km NO de La Gallareta-	60° 27' 53,1''	29° 31' 36,3''	RG882 a RG884	
	<i>Dendropsophus nanus</i>	-	-	17,2±3,3		15	-	Reserva Provincial El Rico	60° 41' 15,35''	32° 16' 34,86''	RG760 a RG764	
	<i>Hypsiboas pulchellus</i>	-	-	39,6±3,7		8	2	Bañado al lado de Alejandra Reserva Provincial El Rico	59° 51' 24,4''	29° 54' 0,6''	RG1101 a RG1110 RG752 a RG759	
	<i>Hypsiboas</i> sp.	-	nd	-		18	-	Campamento 1 - estero 10Km NO de La Gallareta-	60° 27' 53,1''	29° 31' 36,3''	RG1034 a RG1051	
	<i>Leptodactylus chaquensis</i>	-	57,7±9,1	60,4±10,5		18	1	Campamento 1 - estero 10Km NO de La Gallareta Laguna Bonete	60° 27' 53,1'' 60° 32' 53,4''	29° 31' 36,3'' 29° 23' 21,1''	RG983 a RG986; RG1001 a RG100; RG1125 RG1021 a	

Provincia	Especie	L	Tamaño J	A	Técnica	N	N Bd	Sitio	Coordenadas geográficas Longitud (O) Latitud (S)		Número de colección	Colector
											RG1022; RG1026; RG1032 a RG1033	
	<i>Leptodactylus latrans</i>	nd	50,1±4,9	100,5±4,93		19	-	Bañado al lado de Alejandra	59° 51' 24,4''	29° 54' 0,6''	RG1078 a RG1079;	
								Laguna Vedeti, Santo Tomé	60° 45' 10,81''	31° 40' 16,46''	RG725 a RG729; RG735 a RG739	
								Reserva Provincial El Rico	60° 41' 15,35''	32° 16' 34,86''	RG765	
								Reserva UNL	60° 40' 21,39''	31° 28' 18,15''	RG786 a RG787	JAL
								Laguna Bonete	60° 32' 53,4''	29° 23' 21,1''	RG1023 a RG1025	
	<i>Leptodactylus</i> sp.	-	47,9±3,6	-		6	-	Bañado al lado de Alejandra	59° 51' 24,4''	29° 54' 0,6''	RG1076 a RG1077	
								Campamento 1 - estero 10Km NO de La Gallareta-	60° 27' 53,1''	29° 31' 36,3''	RG885 a RG890	
	<i>Physalaemus</i> sp.	-	nd	-		2	-	Campamento 1 - estero 10Km NO de La Gallareta-	60° 27' 53,1''	29° 31' 36,3''	RG897 a RG898	
	<i>Pseudis limellum</i>	-	-	nd		10	-	Bañado al lado de Alejandra	59° 51' 24,4''	29° 54' 0,6''	RG1087 a RG1093; RG1095 a RG1097	
	<i>Pseudis paradoxa</i>	-	nd	46,6±2,5		21	-	Campamento 1 - estero 10Km NO de La Gallareta-	60° 27' 53,1''	29° 31' 36,3''	RG885 a RG886	
								Laguna Bonete	60° 32' 53,4''	29° 23' 21,1''	RG1007 a	

Provincia	Especie	L	Tamaño J	A	Técnica	N	N Bd	Sitio	Coordenadas geográficas Longitud (O) Latitud (S)		Número de colección	Colector
											RG1015	
								Bañado al lado de Alejandra	59° 51' 24,4''	29° 54' 0,6''	RG1053 a RG1062	
	<i>Pseudopaludicola falcipes</i>	-	-	¿nd		9	-	Bañado al lado de Alejandra	59° 51' 24,4''	29° 54' 0,6''	RG1078 a RG1086	
	<i>Rhinella arenarum</i>	-	nd	-		3	-	Santa Fe (piletones del Parque Garay)	60° 43' 07,81''	31° 37' 59,25''	RG781 a RG783	
	<i>Rhinella fernandezae</i>	-	47±2,8	49,8±8,7		16	-	Reserva Provincial El Rico	60° 41' 15,35''	32° 16' 34,86''	RG767; RG769 a RG777	
								Laguna Bonete	60° 32' 53,4''	29° 23' 21,1''	RG1020; RG1031	
								Bañado al lado de Alejandra	59° 51' 24,4''	29° 54' 0,6''	RG1027 a RG1030	
	<i>Rhinella schneideri</i>	-	67±11,7	94		4	-	Reserva Provincial El Rico	60° 41' 15,35''	32° 16' 34,86''	RG768	
								Laguna Bonete	60° 32' 53,4''	29° 23' 21,1''	RG1016 a RG1018	
	<i>Rhinella sp. (majornd)</i>	-	nd	¿nd		9	-	Campamento 1 - estero 10Km NO de La Gallareta-	60° 27' 53,1''	29° 31' 36,3''	RG891 a RG896; RG1122 a RG1123	
								Laguna La Gallareta	60° 22' 32,35''	29° 32' 14,94''	RG1124	
	<i>Sinax nasicus</i>	-	-	21*		2	-	Reserva Provincial El Rico	60° 41' 15,35''	32° 16' 34,86''	RG766	
								Basural (al lado de Terraplen)	60° 40' 49,65''	31° 38' 43,07''	RG788	

Provincia	Especie	L	Tamaño J	A	Técnica	N		Sitio	Coordenadas geográficas		Número de colección	Colector
						N	N Bd		Longitud (O)	Latitud (S)		
Noroeste												
Jujuy	<i>Rhinella spinulosa spinulosa</i>	-	-	nd	PCR	6	2	Camino Iruya- Iturbe, casi límite con Salta	66° 23' 27,89''	23° 16' 58,12''	BB2414	SB, SN, BB
								RN40 a 8,4Km de empalme R52, 12,4Km de Susques	66° 23' 27,89''	23° 16' 58,12''	BB2608 a BB2611	SB, SN, BB
								Ao. próx. (S) de Sey	66° 23' 27,89''	23° 16' 58,12''	BB2651	SB, SN, BB
	<i>Telmatobius marmoratus</i>	-	nd	nd		18	7	Ao. Toro Ara, próx. La Quiaca	65° 27' 47,02''	22° 07' 45''	BB2421 a BB2425	SB, SN, BB, AB
								Casti, Río Yavi	65° 27' 47,02''	22° 07' 45''	BB2426 a BB2429; BB2443 a BB2448	SB, SN, BB, AB
								Entre Cuesta de Toquero y Cieneguillas, cuenca de Pozuelos	65° 27' 47,02''	22° 07' 45''	BB2476 a BB2477	SB, SN, BB, AB
	<i>Telmatobius rubigo</i>	-	-	nd		25	-	Yoscaba	66° 01' 51,84''	22° 09' 56,04''	BB2489 a BB2494	SB, SN, BB, AB
								Cuesta de Fundiciones, Ao, paralelo a la R70, Cuenca de Pozuelos	66° 02' 31,02''	22° 23' 19,93''	BB2506 a BB2507	SB, SN, BB, AB
								Próx. Orosmayo	66° 20' 46,58''	22° 34' 29,38''	BB2512 a BB2514	SB, SN, BB, AB
								Cuesta de Fundiciones,	66° 02' 31,02''	22° 23' 19,93''	BB2515	SB, SN, BB, AB

Provincia	Especie	L	Tamaño J	A	Técnica	N	N Bd	Sitio	Coordenadas geográficas Longitud (O) Latitud (S)		Número de colección	Colector
								Cuenca Río Grande de San Juan				
								Próx. (2Km S) Nuevo Pirquitas	66° 30' 22,61''	22° 40' 56,50''	BB2527 a BB2531; BB2538	SB, SN, BB, AB
								1,3Km de El Toro camino a Rosales	66° 47' 10,27''	23° 10' 19,86''	BB2544 a BB2550	SB, SN, BB, AB
	<i>Telmatobius</i> sp.	-	nd	-		3	-	La Cueva	65° 21' 56,22''	22° 55' 03,53''	BB2410	SB, SN, BB, AB
								6,4Km de Iturbe camino a La Cueva	61° 25' 10,98''	22° 54' 16,13''	BB2417 a BB2418	SB, SN, BB, AB
	<i>Telmatobius atacamensis</i>	-	nd	nd		32	-	RN40 a 8,4Km de empalme R52, 12,4Km de Susques	66° 23' 27,89''	23° 16' 58,12''	BB2621 a BB2636; BB2643 a BB2648	SB, SN, BB, AB
								Ao. próx. (S) de Sey	66° 30,649	24° 00' 4,98''	BB2653 a BB2662	SB, SN, BB, AB
Salta	<i>Hipsiboas andinus</i>	-	nd	-	PCR	3	-	Arroyo Las Cuevas, Las Cuevas	66° 03' 01,09''	24° 18' 58,30''	BB2679; BB2680 a BB2681	SB, SN, BB
								Santa Rosa de Tastil	65° 57' 30,93''	24° 25' 30,97''	BB2680 a BB2681	SB, SN, BB
	<i>Rhinella spinulosa spinulosa</i>	-	-	nd		3	-	RN51 entre Encrucijada y Las Cuevas	66° 03' 01,09''	24° 18' 58,30''	BB2668 a BB2669; BB2685	SB, SN, BB
								Río San Antonio de los Cobres, próx. San Antonio de los Cobres	66° 19' 48,45''	24° 13' 27,73''	BB2685	SB, SN, BB

Provincia	Especie	L	Tamaño J	A	Técnica	N	N Bd	Sitio	Coordenadas geográficas Longitud (O) Latitud (S)		Número de colección	Colector
	<i>Telmatobius marmoratus</i>	-	nd	nd		12	-	4-5Km de Vizcachani, camino a Santa Victoria Oeste	65° 07' 42,98''	22° 07' 51,95''	BB2678; BB2449 a BB2459	SB, SN, BB
Catamarca	<i>Rhinella spinulosa spinulosa</i>	-	nd	nd	PCR	12	-	Laguna Blanca	66° 54' 30,98''	26° 32' 04,81''	BB2687 a BB2688	SB, SN, BB
								Villa Vil	66° 49' 16,87''	22° 05' 11,2''	BB2689	SB, SN, BB
								Río La Horqueta y Río El Bolsón, Villa Vil	66° 51' 42,05''	27° 04' 05,81''	BB2690 a BB2694	SB, SN, BB
								El Chorro, próx. Cazadero Grande	66° 57' 50,85''	26° 29' 44,74''	BB2724 a BB2725; BB2728 a BB2729	SB, SN, BB
	<i>Telmatobius hautali</i>	-	nd	nd		24	-	El Chorro, próx. Cazadero Grande	66° 57' 50,85''	26° 29' 44,74''	BB2713 a BB2723	SB, SN, BB
Cuyo												
La Rioja	<i>Hypsiboas riojanus</i>	nd	-	-	Lupa	9	-	Huaco Arriba, Dpto Sanagasta	67° 05' 59''	29° 10' 00,1''	PT 4558	MGP
	<i>Odontophrynus</i> sp.	nd	-	-		13	-	Río Shimpa, Talampaya	67° 29' 25,73''	28° 56' 46,83''	MGP 0095	MGP
	<i>Pleurodema guayape</i>	41,8±12,8 (35-41)	-	-		10	-	Barrial de la puerta de Arauco, Dpto Arauco	66° 47' 58,26''	28° 32' 36,59''	nd	MGP, LM, MP
	<i>Rhinella spinulosa spinulosa</i>	26,4±3,9 (28-40)	-	-		19	-	Río Los Cajones, Talampaya	68° 13' 30,57''	29° 16' 15,48''	MGP 0090	MGP
								Río Shimpa, Talampaya	67° 29' 25,73''	28° 56' 46,83''		MGP
	<i>Telmatobius</i> sp.	64,1±9,2 (34-40)	-	-		13	-	río que cruza el camino en Puerta	67° 30' 20,3''	28° 52' 57,24''	MGP 0075 a MGP 0076	MGP

Provincia	Especie	L	Tamaño J	A	Técnica	N	N Bd	Sitio	Coordenadas geográficas Longitud (O) Latitud (S)		Número de colección	Colector
								Blanco, Dpto Famatina				
	<i>Hypsiboas ríojanus</i>	48,66 (36)	-	-	Hist	1	-	Huaco Arriba, Dpto Sanagasta	67° 05' 59''	29° 10' 00,1''	PT 4558	MGP
	<i>Odontophrynus</i> sp.	25,84 (nd)	-	-		1	-	Río Shimpa, Talampaya	64° 57' 11,06''	29° 50' 51,21''	MGP 0106	MGP
	<i>Rhinella arenarum</i>	14,45 (nd)	-	-		1	-	Anillaco, 600 m al este del sementerío	66° 56' 26,48''	28° 48' 23,45''	PT 4556	MGP
	<i>Rhinella spinulosa spinulosa</i>	23,41 (31)	-	-		1	-	Río Los Cajones, Talampaya	68° 12' 00''	29° 43' 59,88''	nd	MGP
	<i>Hypsiboas ríojanus</i>	-	nd	nd	PCR	40	-	Río Aschavil, próx. Los Corrales	67° 39' 17,67''	28° 49' 29,57''	BB2771 a BB2778	SB, SN, BB
								Río El Marco, próx. Los Corrales	67° 39' 4,84''	28° 50' 12,85''	BB2794 a BB2800	SB, SN, BB
								San Blas de los Sauces	67° 05' 21,79''	28° 22' 44,22''	BB2806 a BB2813	SB, SN, BB
								Río Aschavil, entre Los Corrales y Tres Piedras	67° 39' 17,67''	28° 49' 29,57''	BB2835 a BB2845	SB, SN, BB
								Finca Ascha, entre 1700 y 1800 msnm, próx. Aimogasta	66° 41' 55,9''	28° 25' 14,28''	BB2855 a BB2860	SB, SN, BB
	<i>Odontophrynus barríoi</i>	-	-	nd		3	-	Río El Marco, próx. Los Corrales	67° 39' 4,84''	28° 50' 12,85''	BB2791	SB, SN, BB
								Arroyo en Santa Vera Cruz, Sa. de Velasco	66° 46' 45,30''	28° 37' 02,38''	BB2853	SB, SN, BB
								Finca Ascha, entre 1600 y 1700	66° 41' 55,9''	28° 25' 14,28''	BB2854	SB, SN, BB

Provincia	Especie	L	Tamaño J	A	Técnica	N	N Bd	Sitio	Coordenadas geográficas Longitud (O) Latitud (S)		Número de colección	Colector
								msnm, próx. Aimogasta				
	<i>Rhinella spinulosa spinulosa</i>	-	nd	nd		51	5	Río Aschavil, próx. Los Corrales	67° 39' 17,67''	28° 49' 29,57''	BB2779 a BB2787	SB, SN, BB
								Río El Marco, próx. Los Corrales	67° 39' 4,84''	28° 50' 12,85''	BB2801 a BB2804	SB, SN, BB
								Río Aschavil, entre Los Corrales y Tres Piedras	67° 39' 17,67''	28° 49' 29,57''	BB2828 a BB2830	SB, SN, BB
								Araya, camino a La Mejicana pasando Arroyo El Marco, próx a éste	67° 45' 16,17''	29° 00' 05,23''	BB2846	SB, SN, BB
								Arroyo El Peñón, camino a Laguna Brava, 3050 msnm	68° 45' 8,58''	28° 32' 20,09''	BB2896 a BB2929	SB, SN, BB
	<i>Telmatobius</i> sp.	-	nd	nd		13	-	Arroyo El Peñón, camino a Laguna Brava, 3050 msnm	68° 45' 8,58''	28° 32' 20,09''	BB2869 a BB2881	SB, SN, BB
San Juan	<i>Odontophrynus occidentalis</i>	58,2±18,9 (31-42)	-	-	Lupa	6	-	H. de Huachi, Aguada del Algarrobo, Dpto. Jachal	68° 45' 11,6''	30° 00' 42,1''	RG111 a RG116	ES, LQ
	<i>Rhinella arenarum</i>	25,5±1,2 (37-41)	-	-		10	-	Departamento Zonda	68° 44' 00,01''	31° 33' 00,01''	RG101 a RG110	ES, LQ
	<i>Leptodactylus latrans</i>	-	56,1	-	Hist	1	1	Depto. Zonda	68° 44' 00,01''	31° 33' 00,01''	RG129	ES, LQ
	<i>Pleurodema tucumana</i>	-	-	35,1±3		4	-	Loc. Las Tumanas, Dpto	67° 19' 28,1''	30° 51' 40,7''	1; 3; 6; 8	ES, LQ

Provincia	Especie	L	Tamaño J	A	Técnica	N	N Bd	Sitio	Coordenadas geográficas Longitud (O) Latitud (S)		Número de colección	Colector
								Valle Fértil				
	<i>Pleurodema nebulosa</i>	-	-	39,1±0,45		4	-	Loc. Matagusanos, Dpto Ullum	68° 38' 18,48''	31° 14' 45,49''	14; 3; 1; 4	ES, LQ
	<i>Rhinella arenarum</i>	-	-	96,35		1	-	río San Juan, Dpto Zonda	68° 44' 00,01''	31° 33' 00,01''	nd	ES, LQ
	<i>Rhinella spinulosa papillosa</i>	-	-	88,99		1	-	Gualcamayo, Dpto Jachal	68° 35' 59,97''	29° 38' 24,01''	IMCN UNSJ 5070 E-8	ES, LQ
	<i>Leptodactylus bufonius</i>	-	-	57,1	PCR	1	-	camino a Las Juntas	67° 33' 28,6''	30° 41' 1,3''	ECRA155	
	<i>Leptodactylus latrans</i>	-	82,5±14,8	101,9±9,2		9	-	canales del río Castaño, Dpto Calingasta	69° 26' 32,7''	31° 14' 52,71''	RG229 a RG230	
								camino a Las Juntas	67° 33' 28,6''	30° 41' 1,3''	ECRA152 a ECRA154	
								Calingasta, río Castaño	69° 26' 74,4''	31° 15' 0,75''	RG1365 a RG1368	
	<i>Odontophrynus occidentalis</i>	82,0±1,1 (39-41)	43,2±8	49,9±9,3		18	1	Vega 2	68° 45' 11,6''	30° 00' 42,1''	RG1223 a RG1229	
								Vega 3	68° 45' 11,6''	30° 00' 42,1''	RG1235	
								Vega 4	68° 45' 11,6''	30° 00' 42,1''	ECRA96; RG1249 a RG1251	
								Pozo	68° 45' 11,6''	30° 00' 42,1''	ECRA101 a ECRA106	
	<i>Rhinella arenarum</i>	-	55,4±16,3	85,5±12,5		56	-	Campamento SJ	68° 45' 11,6''	30° 00' 42,1''	RG1218 a RG1222	

Provincia	Especie	L	Tamaño J	A	Técnica	N	N Bd	Sitio	Coordenadas geográficas Longitud (O)	Latitud (S)	Número de colección	Colector
								Vega 3	68° 45' 11,6''	30° 00' 42,1''	ECRA94 a ECRA95	
								Vega 4	68° 45' 11,6''	30° 00' 42,1''	ECRA97 a ECRA100	
								Pozo	68° 45' 11,6''	30° 00' 42,1''	ECRA107	
								Río Agua Hedionda	68° 32' 36,1''	30° 08' 18,5''	ECRA108 a ECRA122	
								Río Usno	67° 33' 18,9''	30° 34' 26,7''	RG1277; ECRA134 A ECRA136; RG1281	
								camino a Las Juntas	67° 33' 28,6''	30° 41' 1,3''	RG1296 a RG1304	
								La Majadita	67° 33' 28,8''	30° 41' 0,14''	RG1316 a RG1323	
								Calingasta, río Castaño	69° 26' 74,4''	31° 15' 0,75''	RG1370 a RG1380	
	<i>Rhinella spinulosa papillosa</i>	-	49±17,5	86,2±7,6		11	1	Jaguelito, Dpto Iglesias	69° 36' 56,81''	29° 44' 26,87''	RG285 a RG286	
								Campamento SJ- Huerta de Huachi	68° 45' 11,6''	30° 00' 42,1''	RG1211 a RG1217	
								Vega 2	68° 45' 11,6''	30° 00' 42,1''	RG1231 a RG1232	
	<i>Pleurodema</i> sp.	nd	-	-		1	-	Vega 2	68° 45' 11,6''	30° 00' 42,1''	RG1230	
	<i>Pleurodema tucumana</i>	35,7±0,8 (nd)		34,5±6,2		37	-	Río Agua Hedionda	68° 32' 36,1''	30° 08' 18,5''	ECRA118 a ECRA121;	

Provincia	Especie	L	Tamaño J	A	Técnica	N	N Bd	Sitio	Coordenadas geográficas Longitud (O) Latitud (S)		Número de colección	Colector
								Río Usno	67° 33' 18,9''	30° 34' 26,7''	ECRA124 a ECRA129;RG12 74 A RG1276	
								camino a Las Juntas	67° 33' 28,6''	30° 41' 1,3''	ECRA148 a ECRA176	
								La Majadita	67° 33' 28,8''	30° 41' 0,14''	RG1305 A RG1311	
											RG1324 A RG1330	
Mendoza	<i>Alsodes pehuenche</i>	nd	57,2*	58,8±3,1	PCR	23	2	Paso Internacional Pehuenche	70° 22' 53,88''	35° 58' 35,4''	LV-L; LV-M; *1; *2; E2; E3; E4; L4 larvas Vega; L2 larvas Vega; 31101; 314463; 318443; 31423; 314413; 31-10-1; 1241; 3122; 2261; 3142; 1221; 21102; A° 2 arr	VC
Patagonia												
Neuquén	<i>Atelognathus patagonicus</i>	-	25,3±2,1	37,2±5,1	Hist	13	1*	SW end of Laguna Blanca, Cerro Mellizo Sur, Dpto Zapala	70° 21' 57,28''	39° 02' 30,91''	MIC341 a MIC343; MIC345	
								Laguna del Burro, PNLB, Dpto Zapala	70° 24' 43,89''	39° 06' 58,47''	nd	MEC
								Laguna del Molle, PNLB, Dpto Zapala	70° 25' 7,2''	39° 00' 46''	nd	MEC
								Laguna Hueso, PNLB, Dpto	70° 24' 56''	39° 00' 6,2''	RG665; RG668	

Provincia	Especie	L	Tamaño J	A	Técnica	N	N Bd	Sitio	Coordenadas geográficas Longitud (O) Latitud (S)		Número de colección	Colector
								Zapala				
								Laguna Verde, PNLB, Dpto Zapala	70° 22' 57,9''	39° 00' 36,45''	RG700	
	<i>Atelognathus praebasalticus</i>	-	23,4±2,0	-		2	-	sistema del PNLB	70° 21' 57,28''	39° 02' 30,91''	RDS11841	
								SW end of Laguna Blanca, Cerro Mellizo Sur, Dpto Zapala	70° 21' 57,28''	39° 02' 30,91''	RDS11755	
	<i>Atelognathus patagonicus</i>		24,4±2,5	37,2±5,1	PCR	48	31	Laguna Verde, PNLB, Dpto. Zapala	70° 22' 57,9''	39° 00' 36,45''	RG500 a RG504	
								Laguna Hueso, PNLB, Dpto. Zapala	70° 24' 56''	39° 00' 6,2''	RG516 a RG520; RG660 a RG664	
								Laguna El Hoyo, PNLB, Dpto. Zapala	70° 26' 00''	39° 00' 44''	RG530 a RG534; RG657 a RG659	
								Laguna Molle, PNLB, Dpto. Zapala	70° 25' 7,2''	39° 00' 46''	RG540 a RG544	
								Laguna Antiñir, PNLB, Dpto. Zapala	70° 23' 41,8''	38° 58' 59''	RG550 a RG554	
								Laguna Jabón, PNLB; Dpto. Zapala	70° 22' 19,6''	38° 56' 43,5''	RG560 a RG564	
								Laguna Montesino, PNLB, Dpto. Zapala	70° 22' 28''	38° 58' 4,3''	RG570 a RG574	

Provincia	Especie	L	Tamaño J	A	Técnica	N	N Bd	Sitio	Coordenadas geográficas Longitud (O) Latitud (S)		Número de colección	Colector
								Laguna Antonio, PNLB, Dpto. Zapala	70° 22' 45,1''	38° 57' 56,7''	RG580 a RG584	
	<i>Pleurodema bufoninum</i>	-	nd	-		1	-	Arroyo Llano Blanco, PNLB, Dpto Zapala	nd	nd	RG512	
Río Negro	<i>Pleurodema bufoninum</i>	32,6±5,0 (29-40)	-	-	Lupa	13	-	Río Ñireco, SC de Bariloche	71° 19' 13,06''	41° 10' 52,3''	nd	
	<i>Pleurodema thaul</i>	22,3±0,4 (26-28)	-	-		3	-	Río Ñireco, SC de Bariloche	71° 19' 13,06''	41° 10' 52,3''	nd	
	<i>Rhinella spinulosa papillosa</i>		-	-		3	-	Estanques afuera del CRUB	71° 25' 13''	41° 07' 43,73''	nd	
	<i>Alsodes gargola</i>	-	-	48	PCR	2	-	Laguna Toncek (Refugio Frey)	71° 29' 35,56''	41° 11' 08,42''	RG655	OM, LS
	<i>Pleurodema bufoninum</i>	19* (31)	-	-		6	-	Refugio Tonchek Laguna Ñireco	71° 29' 45,85'' 71° 19' 13,6''	41° 11' 14,2'' 41° 10' 52,3''	RG807 RG740 a RG743; RG1389 a RG1390	G-PNNH
	<i>Pleurodema thaul</i>	nd	31	-		10	2	Laguna Fantasma RN 234, a 20Km de Villa La Angostura Teleferico	71° 27' 00'' 71° 38' 75,32'' 71° 22' 07,16''	41° 05' 33'' 40° 45' 36,77'' 41° 06' 47,89''	RG748 a RG751; RG806 RG808 RG1385 a RG1388	
	<i>Rhinella spinulosa papillosa</i>	59	-	-		4	-	Ruta 40, laguna de la banquina	71° 19' 13''	41° 10' 52''	RG744 a RG747	
Chubut	<i>Pleurodema bufoninum</i>	-	-	53	PCR	2	1	Ruta 40 - 12km al E de Esquel	71° 09' 50,5''	42° 58' 08''	RG1394 a RG1395	MGP, FC, CA, RS

Provincia	Especie	L	Tamaño J	A	Técnica	N	N Bd	Sitio	Coordenadas geográficas		Número de colección	Colector
									Longitud (O)	Latitud (S)		
Santa Cruz	<i>Pleurodema bufoninum</i>	nd	-	-	PCR	3	-	Ruta 40 - 50Km N Governador Gregores	70° 26' 10,2''	48° 31' 32,6''	RG1391 a RG1393	MGP, FC, CA, RS
Total						871	57					

Tabla 2. Resultado del índice de solapamiento (IS) de cada uno de los puntos de registro de *Bd* en los mapas de salida del modelado. *Bd_min*: IS de cada punto en el mapa de mínimas probabilidades; *Bd_median*: IS de cada punto en el mapa de probabilidades promedio; *Bd_max*: IS de cada punto en el mapa de máximas probabilidades; *Bd_stddev*: IS de cada punto en el mapa de desvío estandarizado.

Provincia	Longitud (O)	Latitud (S)	<i>Bd_min</i>	<i>Bd_median</i>	<i>Bd_max</i>	<i>Bd_stddev</i>
Buenos Aires	57° 51' 00"	35° 01' 00"	0,683	0,727	0,76	0,025
Buenos Aires	58° 01' 00"	34° 53' 00"	0,808	0,853	0,872	0,019
Buenos Aires	57° 56' 00"	34° 50' 40"	0,762	0,867	0,877	0,042
Buenos Aires	58° 04' 31"	34° 50' 00"	0,836	0,86	0,879	0,013
Buenos Aires	57° 51' 28"	35° 01' 08"	0,683	0,727	0,76	0,025
Buenos Aires	58° 04' 31"	34° 56' 05"	0,505	0,597	0,623	0,037
Buenos Aires	57° 51' 28"	35° 01' 08"	0,683	0,727	0,76	0,025
Buenos Aires	58° 04' 31"	34° 56' 05"	0,505	0,597	0,623	0,037
Buenos Aires	57° 51' 28"	35° 01' 08"	0,683	0,727	0,76	0,025
Buenos Aires	58° 00' 36"	34° 48' 12"	0,777	0,877	0,887	0,034
Chubut	71° 09' 50"	42° 58' 08"	0,116	0,316	0,374	0,072
Córdoba	65° 55' 41"	32° 24' 13"	0,047	0,143	0,166	0,039
Córdoba	65° 55' 41"	32° 24' 13"	0,047	0,143	0,166	0,039
Córdoba	64° 36' 20"	31° 23' 08"	0,217	0,361	0,431	0,075
Córdoba	64° 35' 37"	31° 23' 48"	0,214	0,359	0,423	0,076
Jujuy	65° 19' 37"	22° 51' 24"	0,063	0,382	0,414	0,116
Jujuy	65° 36' 16"	22° 08' 24"	0,876	0,888	0,895	0,006
Jujuy	65° 36' 16"	22° 08' 24"	0,876	0,888	0,895	0,006
Jujuy	65° 36' 16"	22° 08' 24"	0,876	0,888	0,895	0,006
Jujuy	65° 36' 16"	22° 08' 24"	0,876	0,888	0,895	0,006
Jujuy	65° 36' 16"	22° 08' 24"	0,876	0,888	0,895	0,006
Jujuy	66° 01' 52"	22° 09' 56"	0,383	0,621	0,669	0,099
Jujuy	66° 01' 52"	22° 09' 56"	0,383	0,621	0,669	0,099
Jujuy	66° 30' 39"	24° 00' 05"	0,024	0,08	0,108	0,02
La Rioja	67° 39' 05"	28° 50' 13"	0,506	0,703	0,761	0,084
La Rioja	67° 39' 05"	28° 50' 13"	0,506	0,703	0,761	0,084
La Rioja	67° 39' 05"	28° 50' 13"	0,506	0,703	0,761	0,084
La Rioja	67° 39' 05"	28° 50' 13"	0,506	0,703	0,761	0,084
La Rioja	68° 45' 09"	28° 32' 20"	0,042	0,216	0,299	0,065
Mendoza	70° 22' 54"	35° 58' 35"	0,015	0,323	0,4	0,11
Mendoza	70° 22' 54"	35° 58' 35"	0,015	0,323	0,4	0,11
Misiones	56° 01' 43"	27° 26' 37"	0,083	0,463	0,497	0,126
Misiones	55° 33' 11"	27° 26' 04"	0,146	0,385	0,429	0,087
Neuquén	70° 25' 07"	39° 00' 46"	0,882	0,887	0,896	0,005
Neuquén	70° 22' 58"	39° 00' 36"	0,829	0,891	0,899	0,019
Neuquén	70° 24' 56"	39° 00' 06"	0,881	0,884	0,895	0,005
Neuquén	70° 24' 56"	39° 00' 06"	0,881	0,884	0,895	0,005
Neuquén	70° 24' 56"	39° 00' 06"	0,881	0,884	0,895	0,005

Provincia	Longitud (O)	Latitud (S)	Bd_min	Bd_median	Bd_max	Bd_stddev
Neuquén	70° 24' 56"	39° 00' 06"	0,881	0,884	0,895	0,005
Neuquén	70° 24' 56"	39° 00' 06"	0,881	0,884	0,895	0,005
Neuquén	70° 26' 00"	39° 00' 44"	0,882	0,884	0,894	0,004
Neuquén	70° 26' 00"	39° 00' 44"	0,882	0,884	0,894	0,004
Neuquén	70° 26' 00"	39° 00' 44"	0,882	0,884	0,894	0,004
Neuquén	70° 26' 00"	39° 00' 44"	0,882	0,884	0,894	0,004
Neuquén	70° 26' 00"	39° 00' 44"	0,882	0,884	0,894	0,004
Neuquén	70° 25' 07"	39° 00' 46"	0,882	0,887	0,896	0,005
Neuquén	70° 25' 07"	39° 00' 46"	0,882	0,887	0,896	0,005
Neuquén	70° 25' 07"	39° 00' 46"	0,882	0,887	0,896	0,005
Neuquén	70° 25' 07"	39° 00' 46"	0,882	0,887	0,896	0,005
Neuquén	70° 25' 07"	39° 00' 46"	0,882	0,887	0,896	0,005
Neuquén	70° 25' 07"	39° 00' 46"	0,882	0,887	0,896	0,005
Neuquén	70° 23' 42"	38° 58' 59"	0,879	0,883	0,891	0,004
Neuquén	70° 23' 42"	38° 58' 59"	0,879	0,883	0,891	0,004
Neuquén	70° 23' 42"	38° 58' 59"	0,879	0,883	0,891	0,004
Neuquén	70° 23' 42"	38° 58' 59"	0,879	0,883	0,891	0,004
Neuquén	70° 22' 20"	38° 56' 44"	0,888	0,895	0,901	0,004
Neuquén	70° 22' 20"	38° 56' 44"	0,888	0,895	0,901	0,004
Neuquén	70° 22' 20"	38° 56' 44"	0,888	0,895	0,901	0,004
Neuquén	70° 22' 20"	38° 56' 44"	0,888	0,895	0,901	0,004
Neuquén	70° 22' 28"	38° 58' 04"	0,862	0,89	0,899	0,01
Neuquén	70° 26' 00"	39° 00' 44"	0,882	0,884	0,894	0,004
Neuquén	70° 24' 56"	39° 00' 06"	0,881	0,884	0,895	0,005
Neuquén	70° 24' 56"	39° 00' 06"	0,881	0,884	0,895	0,005
Neuquén	70° 24' 56"	39° 00' 06"	0,881	0,884	0,895	0,005
Río Negro	71° 27' 00"	41° 05' 33"	0,122	0,322	0,384	0,09
Río Negro	71° 27' 00"	41° 05' 33"	0,122	0,322	0,384	0,09
Salta	66° 13' 58"	24° 14' 50"	0,228	0,571	0,621	0,149
Salta	66° 13' 58"	24° 14' 50"	0,228	0,571	0,621	0,149
San Juan	68° 01' 44"	31° 31' 37"	0,007	0,125	0,214	0,049
San Juan	69° 28' 32"	31° 06' 00"	0,869	0,886	0,899	0,008
San Juan	69° 28' 32"	31° 06' 00"	0,869	0,886	0,899	0,008
San Juan	69° 28' 32"	31° 06' 00"	0,869	0,886	0,899	0,008
San Juan	69° 28' 33"	31° 14' 53"	0,841	0,862	0,877	0,008
San Juan	69° 28' 33"	31° 14' 53"	0,841	0,862	0,877	0,008
San Juan	69° 28' 32"	31° 06' 00"	0,869	0,886	0,899	0,008
San Juan	69° 28' 32"	31° 06' 00"	0,869	0,886	0,899	0,008
San Juan	69° 28' 32"	31° 06' 00"	0,869	0,886	0,899	0,008
San Juan	69° 28' 32"	31° 06' 00"	0,869	0,886	0,899	0,008
San Juan	69° 28' 32"	31° 06' 00"	0,869	0,886	0,899	0,008
San Juan	69° 28' 32"	31° 06' 00"	0,869	0,886	0,899	0,008

Provincia	Longitud (O)	Latitud (S)	Bd_min	Bd_median	Bd_max	Bd_stddev
San Juan	68° 45' 12"	30° 00' 42"	0,065	0,489	0,566	0,14
San Juan	68° 45' 12"	30° 00' 42"	0,065	0,489	0,566	0,14
San Juan	69° 27' 14"	31° 15' 01"	0,786	0,853	0,868	0,028
San Juan	69° 27' 14"	31° 15' 01"	0,786	0,853	0,868	0,028
Santa Fe	60° 40' 00"	31° 30' 00"	0,525	0,577	0,707	0,054
Santa Fe	60° 40' 00"	31° 30' 00"	0,525	0,577	0,707	0,054
Santa Fe	60° 40' 00"	31° 30' 00"	0,525	0,577	0,707	0,054
Santa Fe	60° 40' 00"	31° 30' 00"	0,525	0,577	0,707	0,054
Santa Fe	60° 40' 00"	31° 30' 00"	0,525	0,577	0,707	0,054
Santa Fe	60° 41' 15"	32° 16' 35"	0,467	0,595	0,685	0,061
Santa Fe	60° 41' 15"	32° 16' 35"	0,467	0,595	0,685	0,061
Santa Fe	60° 27' 53"	29° 31' 36"	0,001	0,037	0,039	0,011
Tucumán	66° 02' 45"	26° 21' 12"	0,016	0,151	0,176	0,045
Promedio			0,623	0,705	0,737	0,036
Desvío			0,323	0,246	0,228	0,041

Sitios de muestreo de especies nativas en las diferentes regiones de Argentina

Litoral fluvial

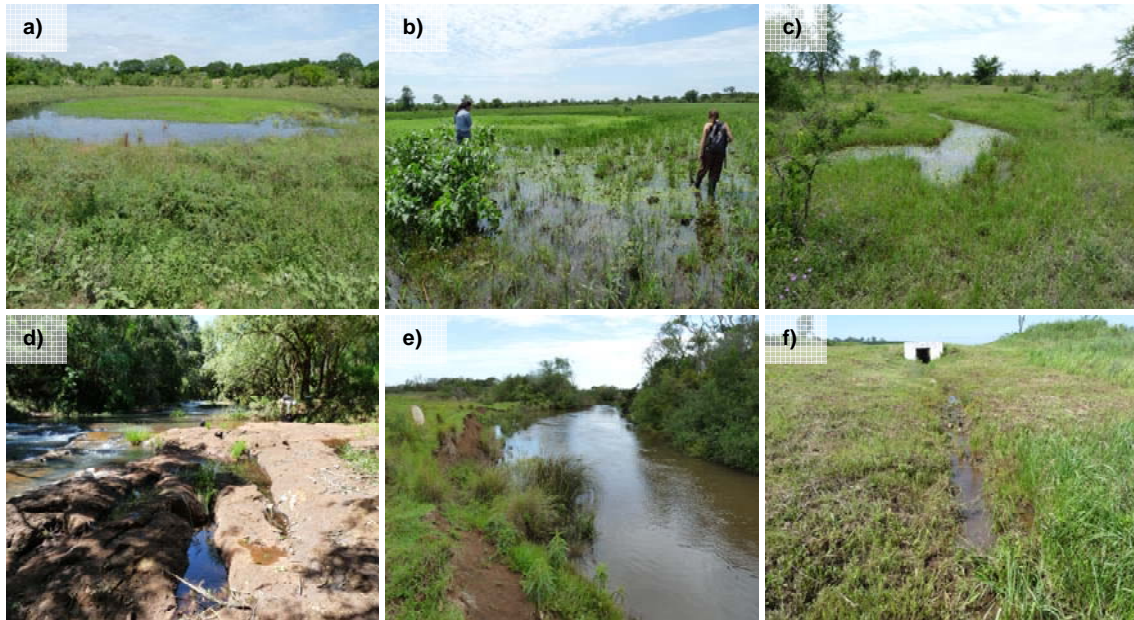


Figura 1. Corrientes: a) Laguna Perichón ($27^{\circ} 25' 55,6''$ S, $58^{\circ} 44' 47,8''$ O); b) y c) Laguna Don Luis ($27^{\circ} 25' 55,6''$ S, $58^{\circ} 44' 47,8''$ O); d) Arroyo Coaty ($27^{\circ} 41' 09,6''$ S, $55^{\circ} 39' 16,6''$ O); e) y f) Vera de la ruta ($28^{\circ} 19' 0,65''$ S, $55^{\circ} 54' 16,6''$ O).



Figura 2. Misiones: a) Laguna frente al puesto de Guardaparques, Parque Provincial Saltos del Moconá ($27^{\circ} 09' 11,56''$ S, $53^{\circ} 54' 05,1''$ O); b) barranca de camino al río, Parque Provincial Saltos del Moconá ($27^{\circ} 09' 04,96''$ S, $53^{\circ} 53' 28''$ O); c) Camping Do Mario, El Soberbio ($27^{\circ} 17' 34,4''$ S, $54^{\circ} 11' 42,3''$ O); d) vera de la Ruta N° 12 en Posadas ($27^{\circ} 26' 37,3''$ S, $56^{\circ} 01' 43''$ O).

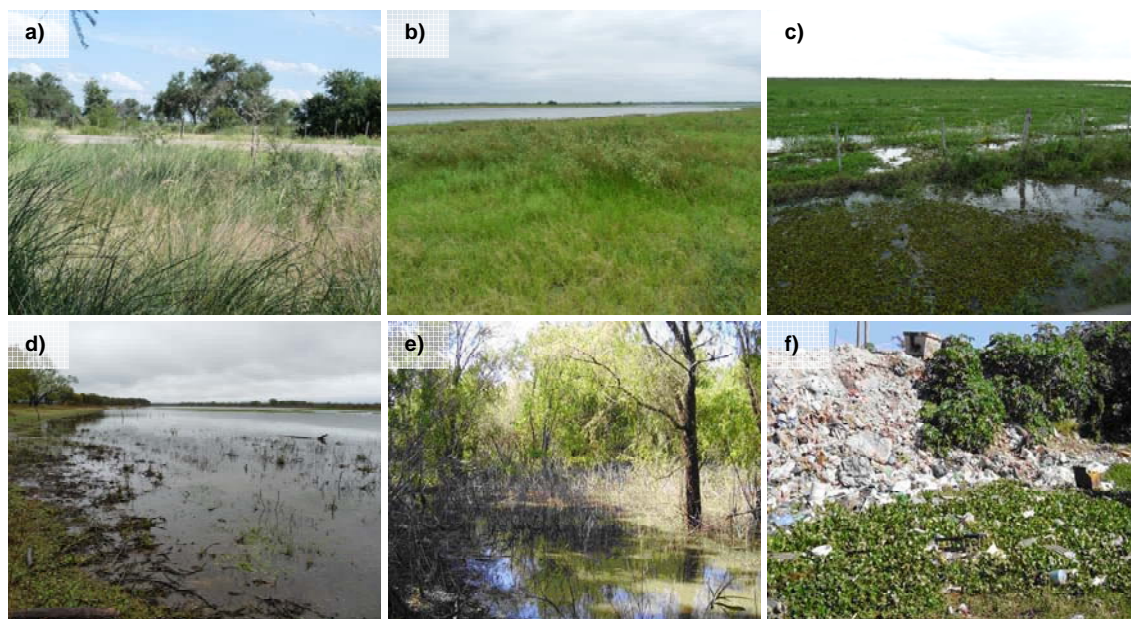


Figura 3. Santa Fe: a) campamento 10Km al NO de la Gallareta ($29^{\circ} 31' 36,3''$ S, $60^{\circ} 27' 53,1''$ O); b) Laguna Bonete ($29^{\circ} 23' 21,1''$ S, $60^{\circ} 32' 53,4''$ O); c) bañado al lado de Alejandra ($29^{\circ} 54' 0,6''$ S, $59^{\circ} 51' 24,4''$ O); d) Reserva Provincial El Rico ($32^{\circ} 16' 34,86''$ S, $60^{\circ} 41' 15,35''$ O); e) Reserva de la Ciudad Universitaria UNL ($31^{\circ} 28' 18,15''$ S, $60^{\circ} 40' 21,39''$ O); f) Basural en Isla Sirgadero ($31^{\circ} 38' 43,07''$ S, $60^{\circ} 40' 49,65''$ O).

Noroeste

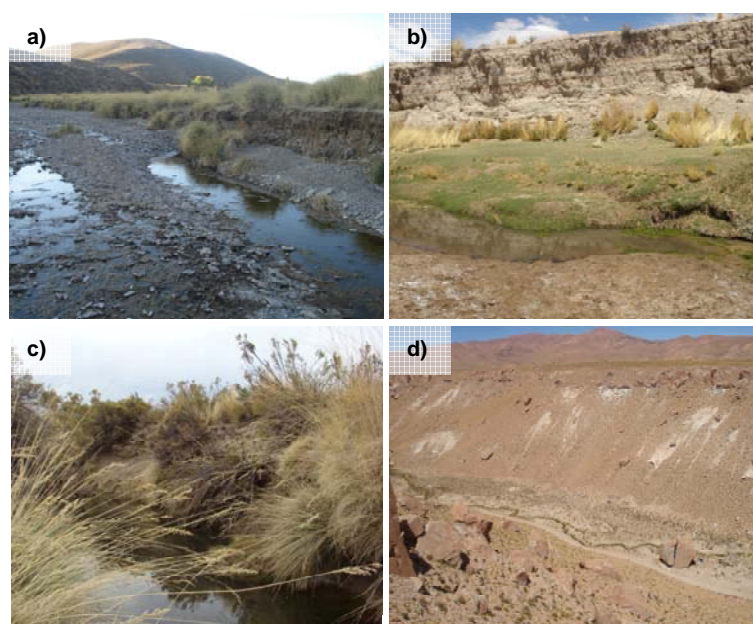


Figura 4. Jujuy: a) Camino Iruya-Iturbe, casi al límite con Salta ($22^{\circ} 51' 23''$ S, $65^{\circ} 13' 36''$ O); b) arroyo Toro Ara, próximo a La Quiaca ($22^{\circ} 08' 24''$ S, $65^{\circ} 36' 16''$ O); c) cuenca de Pozuelos, entre cuesta de Toquero y Cienaguillas ($22^{\circ} 06' 08''$ S, $65^{\circ} 48' 23''$ O); d) Arroyo próximo (S) de Sey ($24^{\circ} 4' 58''$ S, $66^{\circ} 30' 38''$ O). Gentileza: Sebastián Barrionuevo y Boris Blotto.

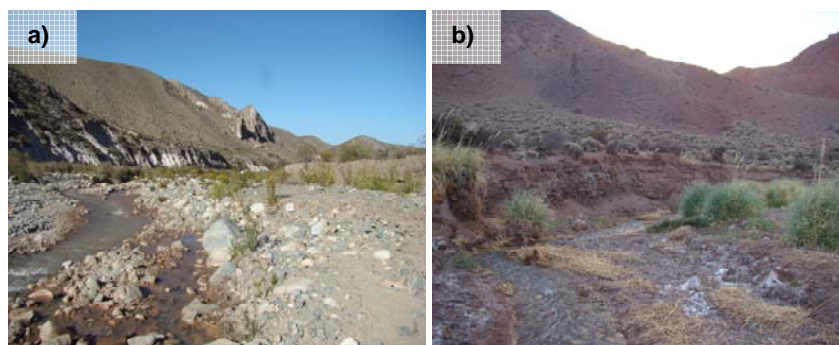
Cuyo

Figura 5. La Rioja: a) río El Marco, próximo a Los Corrales ($28^{\circ} 50' 12,85''$ S, $67^{\circ} 39' 4,84''$ O); b) Arroyo El Peñón, camino a Laguna Brava ($28^{\circ} 32' 20,09''$ S, $68^{\circ} 45' 8,58''$ O). Gentileza: Sebastián Barrionuevo y Boris Blotto.



Figura 6. San Juan: a) Huerta de Huachi ($30^{\circ} 00' 42,1''$ S, $68^{\circ} 45' 11,6''$ O); b) Pozo en Huerta de Huachi ($30^{\circ} 0' 42,1''$ S, $68^{\circ} 45' 11,6''$ O); c) y d) Las Tumanas ($30^{\circ} 51' 40,7''$ S, $67^{\circ} 19' 28,1''$ O).

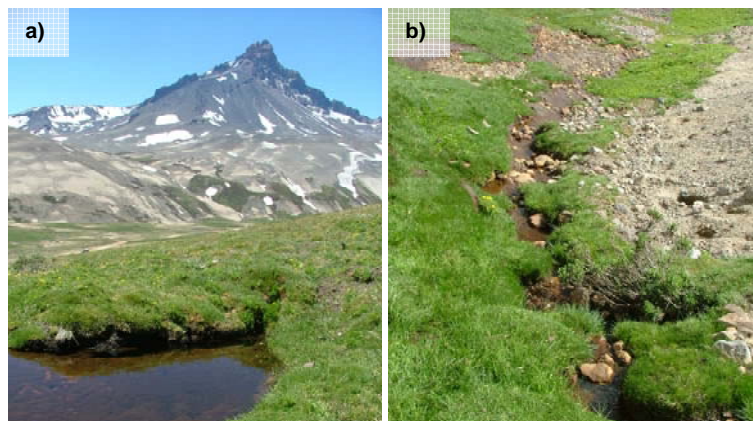


Figura 7. Mendoza: a) y b) Paso Internacional Pehuenche ($35^{\circ} 58' 35.4''$ S, $70^{\circ} 22' 53.88''$ O). Gentileza: Valeria Corbalán.

Patagonia

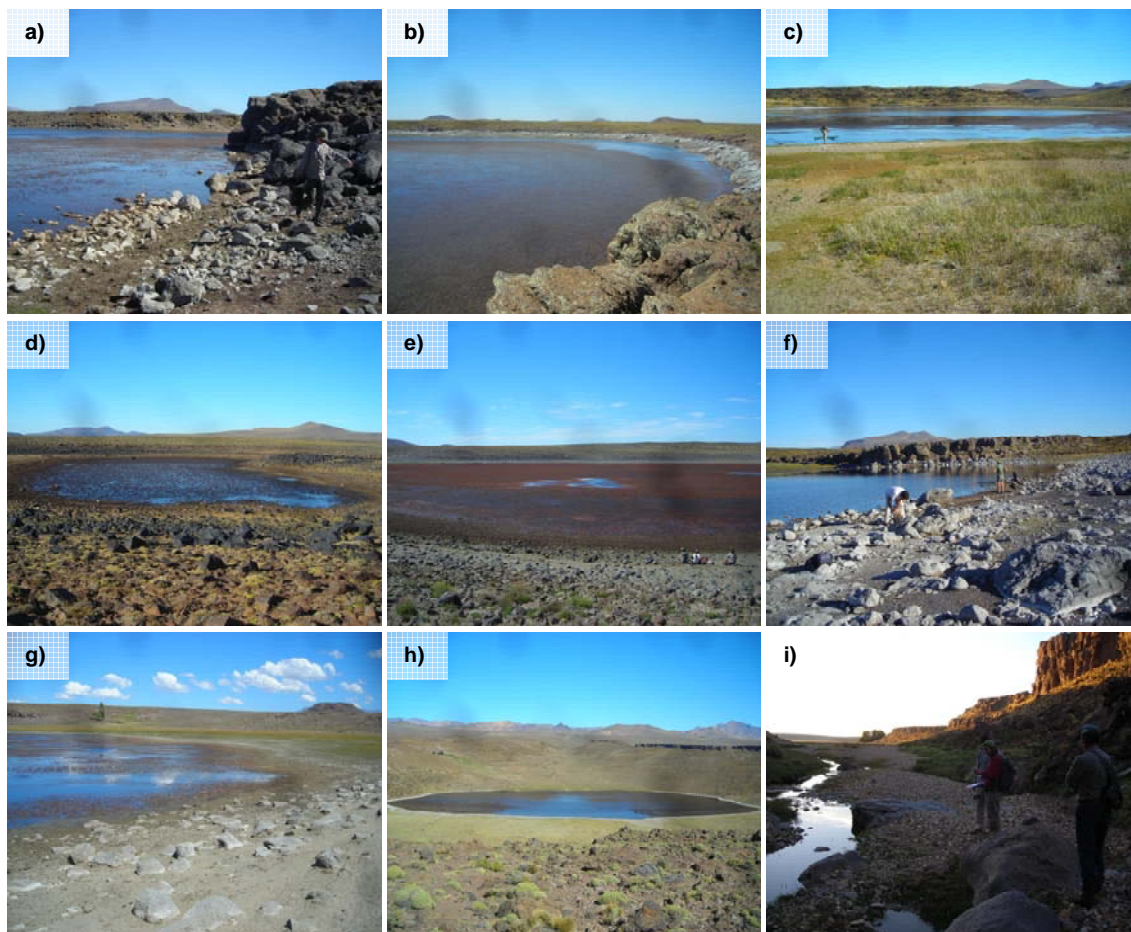


Figura 8. Neuquén: a) Laguna Jabón ($38^{\circ} 56' 43.5''$ S, $70^{\circ} 22' 19.6''$ O); b) Laguna Molle ($39^{\circ} 0' 46''$ S, $70^{\circ} 25' 7.2''$ O); c) Laguna Verde ($39^{\circ} 0' 36.45''$ S, $70^{\circ} 22' 57.9''$ O); d) Laguna del Hueso ($39^{\circ} 0' 6.2''$ S, $70^{\circ} 24' 56''$ O); e) Laguna Montesino ($38^{\circ} 58' 4.3''$ S, $70^{\circ} 22' 28''$ O); f) Laguna Antíñir ($38^{\circ} 58' 59''$ S, $70^{\circ} 23' 41.8''$ O); g) Laguna Antonio ($38^{\circ} 57' 56.7''$ S, $70^{\circ} 22' 45.1''$ O); h) Laguna del Hoyo ($39^{\circ} 0' 44''$ S, $70^{\circ} 26'$ O); i) Arroyo Llano Blanco (nd).

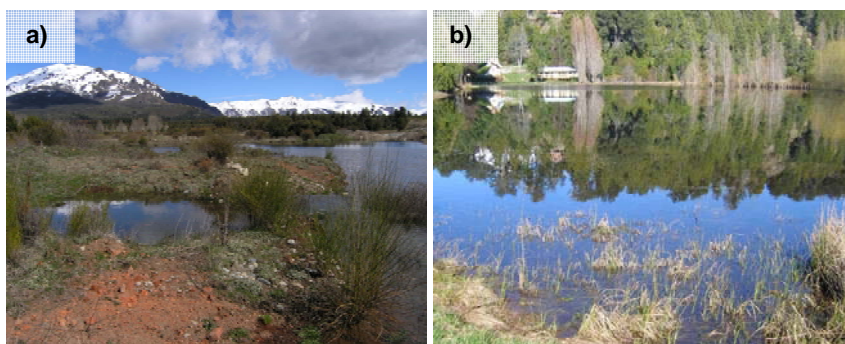


Figura 9. Río Negro: a) Laguna Ñireco, San Carlos de Bariloche ($41^{\circ} 10' 52,3''$ S, $71^{\circ} 19' 13,6''$ O); b) Laguna Fantasma, San Carlos de Bariloche ($41^{\circ} 05' 33''$ S, $71^{\circ} 27' 00''$ O).

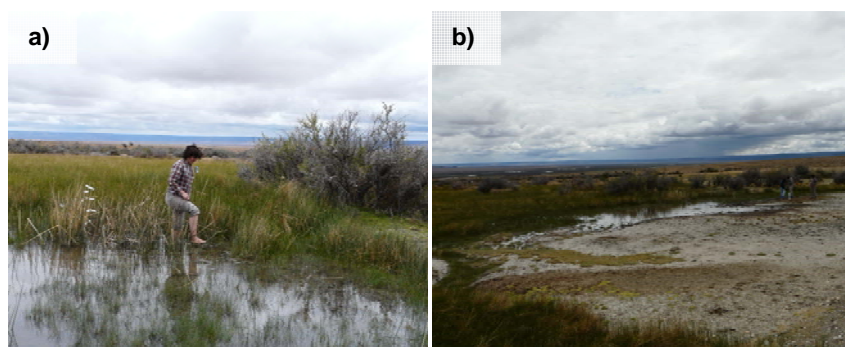


Figura 10. Santa Cruz: a) y b) Ruta 40, 50km al norte de Gobernador Gregores ($48^{\circ} 31' 32,6''$ S, $70^{\circ} 26' 10,2''$ O).

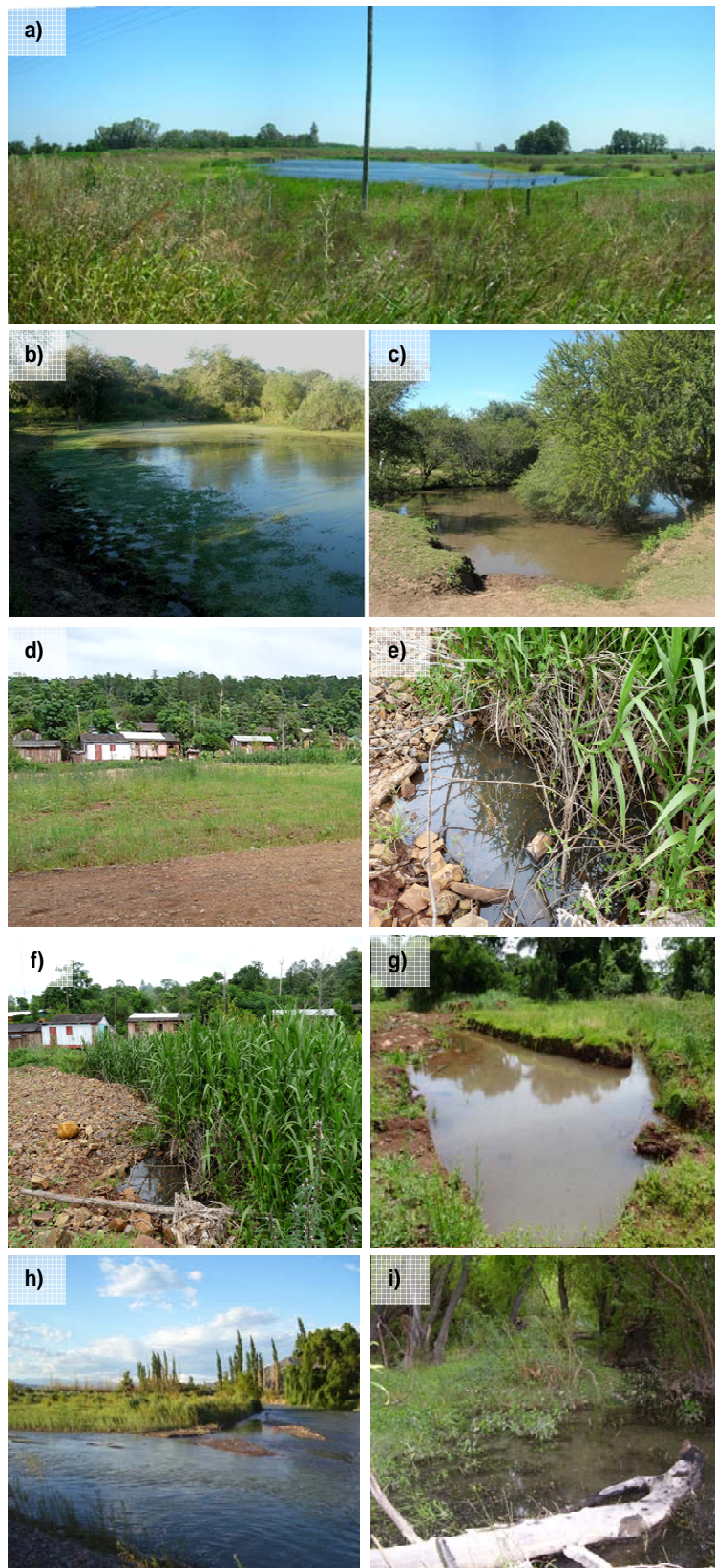
Sitios de origen de los ejemplares de *Lithobates catesbeianus* estudiados

Figura 11. a) Dpto. 9 de Julio (Buenos Aires) ($35^{\circ} 30' 10,7''$ S, $60^{\circ} 57' 17,6''$ O); b) y c) Agua de las Piedras (Córdoba) ($30^{\circ} 48' 46,2''$ S, $64^{\circ} 12' 57,9''$ O); d), e) y f) El Soberbio (Misiones) ($27^{\circ} 27'$ S, $54^{\circ} 11'$ O); g) Saltos del Moconá (Misiones) ($27^{\circ} 09'$ S, $53^{\circ} 53'$ O); h) canales del río Castaño (San Juan) e i) zona pantanosa río Castaño (San Juan) ($31^{\circ} 20'$ S, $69^{\circ} 50'$ O).

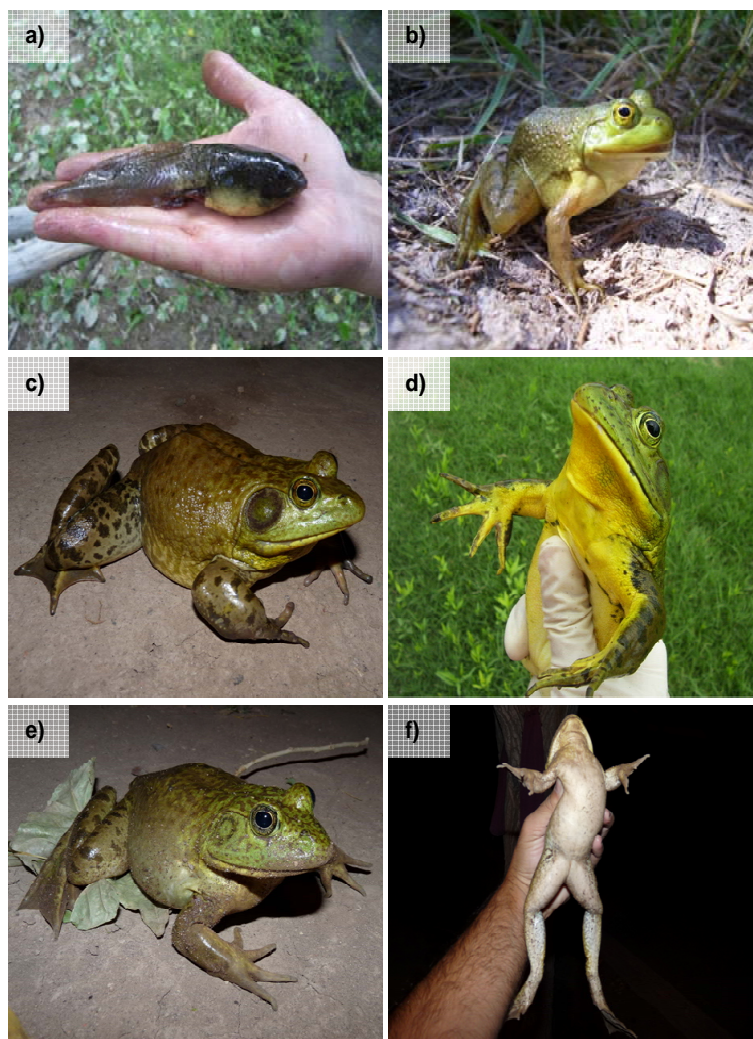


Figura 12. Ejemplares de *Lithobates catesbeianus* colectados en el río Castaño Viejo (Puchuzúm, Provincia de San Juan) (31° 20' S, 69° 50' O). a) larva; b) juvenil; c) y d) macho adulto; e) y f) hembra adulta.

Variables ambientales utilizadas para la elaboración de los modelos

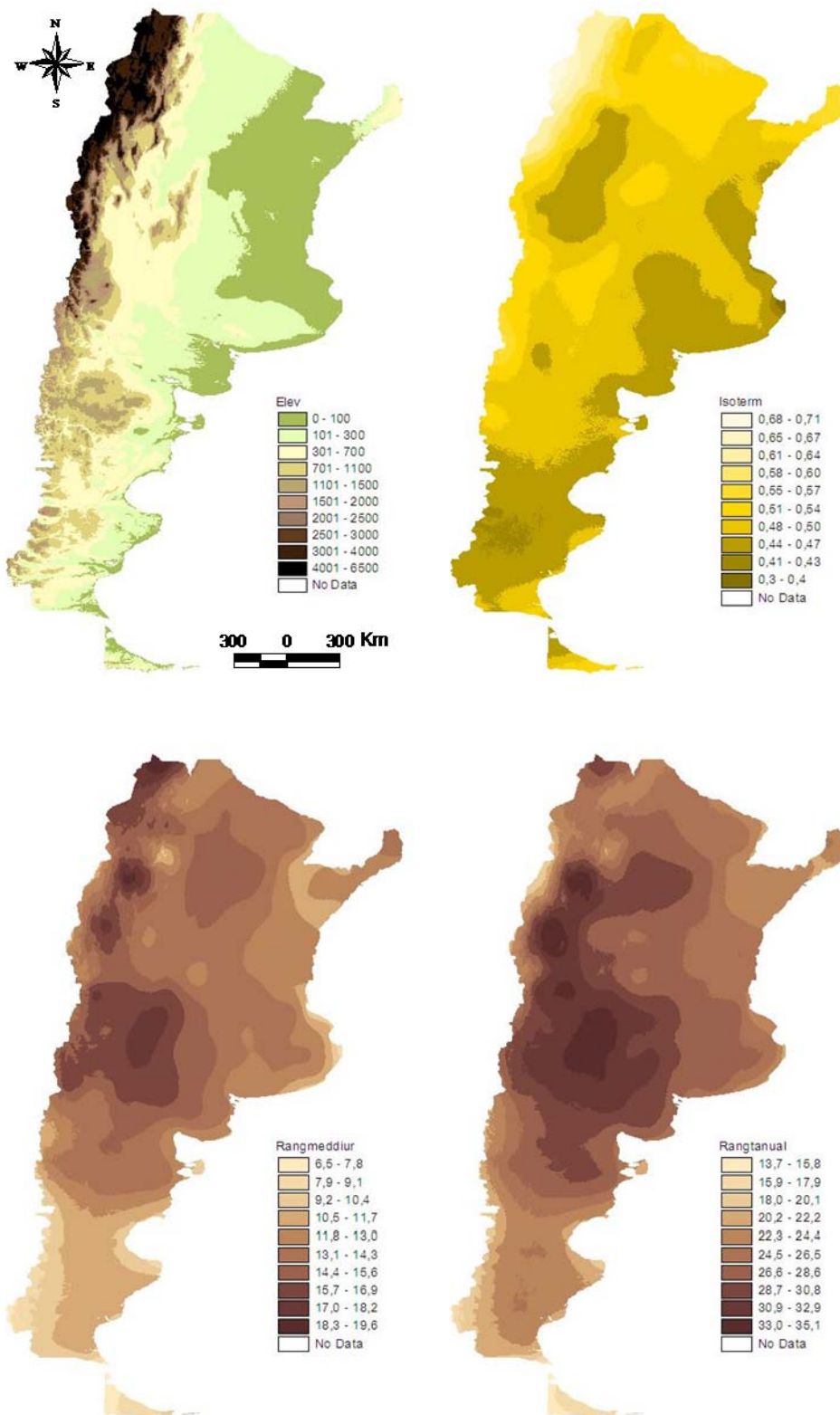


Figura 13. Elev: elevación (msnm), Isoterm: Isotermas (°C), Rangmeddiur: Rango Medio Diurno (°C), Rangtannual: Rango de Temperatura Anual (°C).

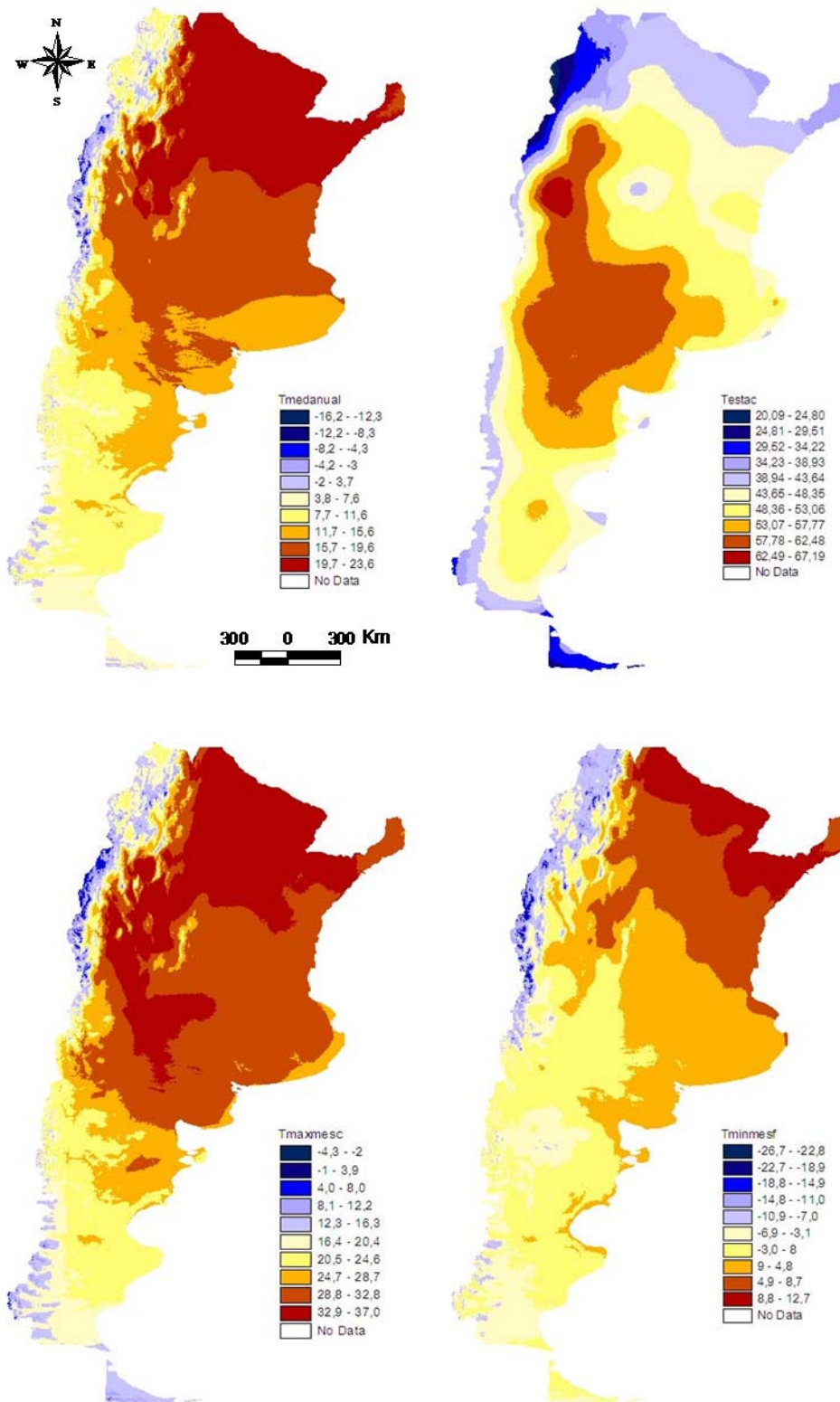


Figura 14. Tmedanual: Temperatura Media Anual (°C), Testac: Temperatura Estacional (°C), Tmaxmesc: Temperatura Máxima en el Mes mas Cálido (°C), Tminmesc: Temperatura Mínima en el Mes mas Frío (°C).

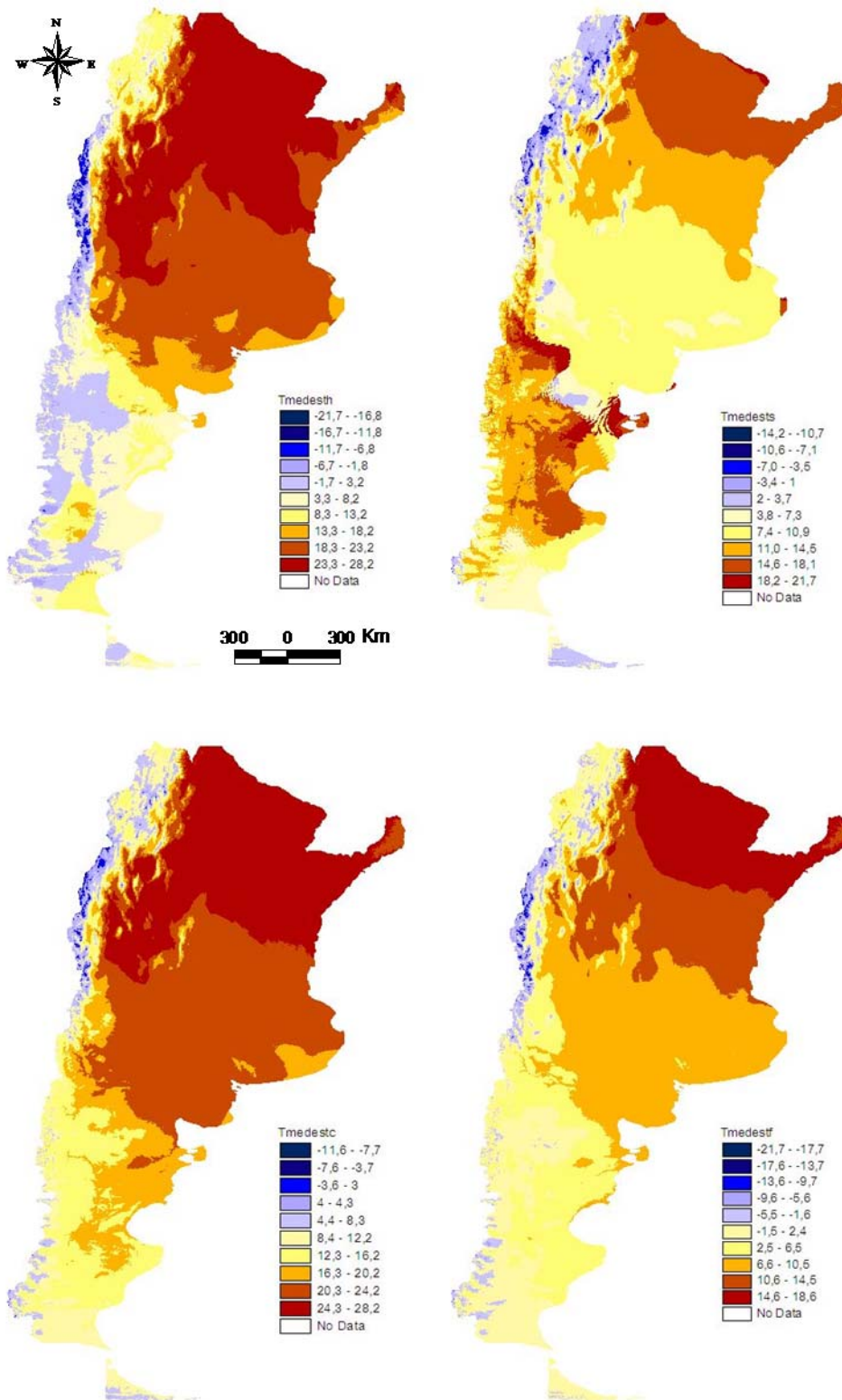


Figura 15. Tmedesth: Temperatura Media en la Estación mas Húmeda (°C), Tmedests: Temperatura Media en la Estación mas Seca (°C), Tmedestc: Temperatura Media en la Estación mas Cálida (°C), Tmedestf: Temperatura Media en la Estación mas Fría (°C).

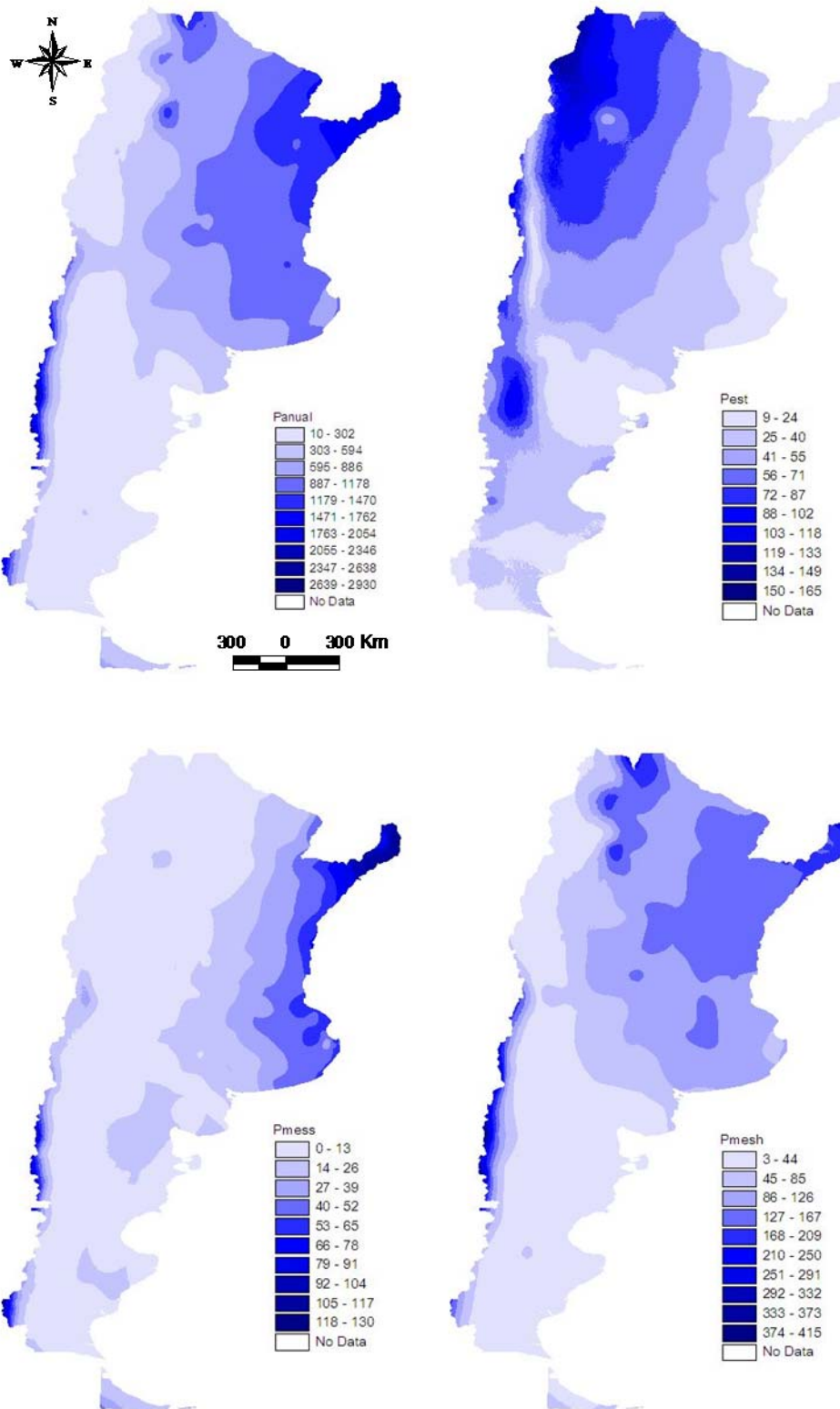


Figura 16. Panual: Precipitación Anual (mm), Pest: Precipitación Estacional (mm), Pmess: Precipitación en el Mes mas Seco (mm), Pmesh: Precipitación en el Mes mas Húmedo (mm).

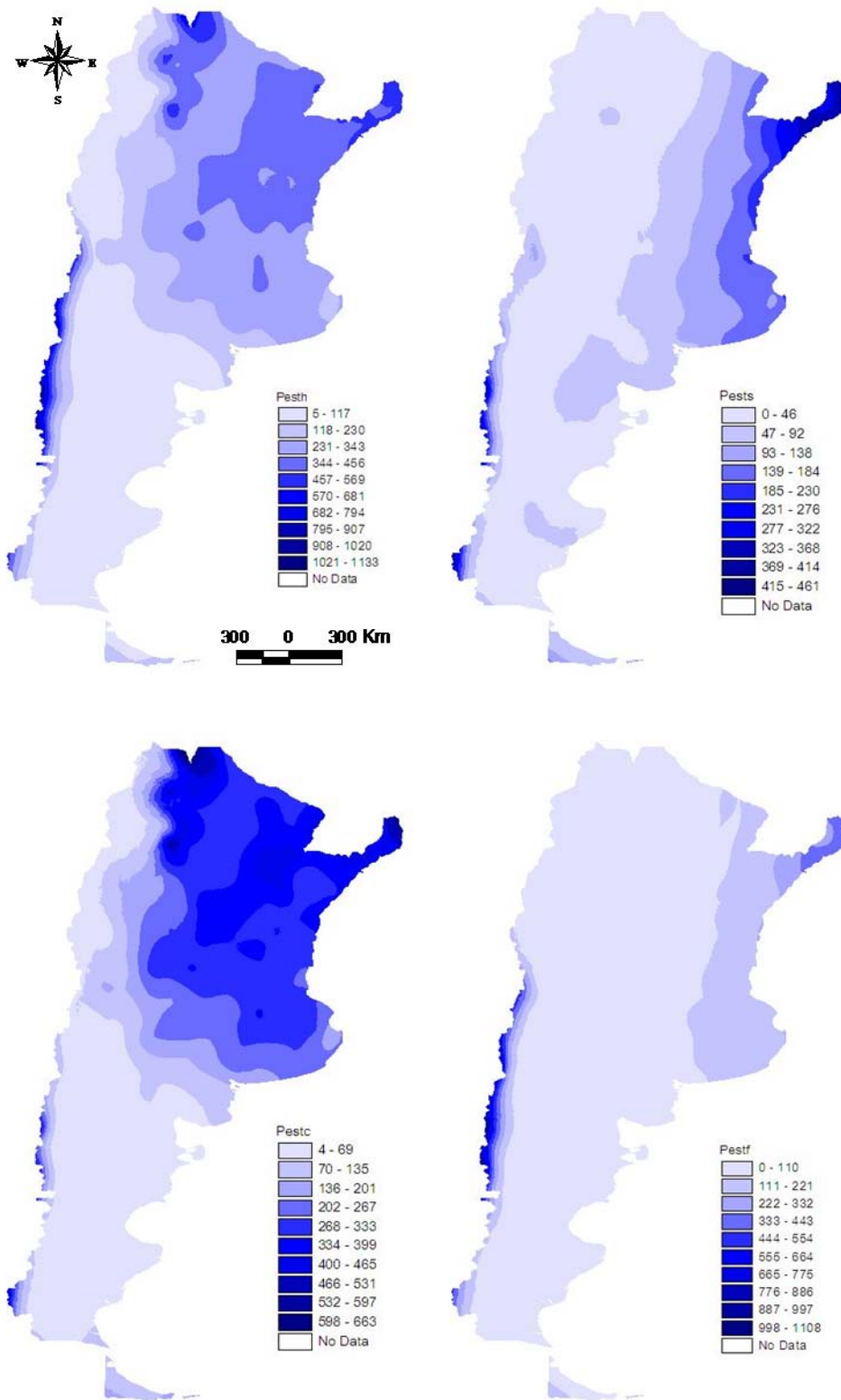


Figura 17. Pesth: Precipitación en la Estación mas Húmeda (mm), Pests: Precipitación en la Estación mas Seca (mm), Pestc: Precipitación en la Estación mas Cálida (mm), Pestf: Precipitación en la Estación mas Fría (mm).

Folletos informativos sobre quitridiomycosis

QUITRIDIOMICOSIS


Es una enfermedad que se presenta en los ANFIBIOS y es causada por un hongo, comúnmente denominado **quitridio**, cuyo nombre científico es *Batrachochytrium dendrobatidis*. Perteneció al Phylum Chytridiomycota, Clase Chytridiomycetes, Orden Rhizophydiales.

Los quitridios son un grupo de hongos acuáticos, con distribución muy amplia y son parásitos conocidos de protozoos, otros hongos, algas, plantas e invertebrados.

Hasta el momento, los únicos vertebrados a los que parasitan los quitridios son los ANFIBIOS, mediante la invasión de la zona queratinizada de la piel de estos vertebrados (la porción más superficial del estrato córneo y estrato granuloso), tanto en su etapa larvaria (renacuajo) como adulta, produciendo lo que se denomina QUITRIDIOMICOSIS.

RANGO DE ACTIVIDAD DEL QUITRIDIO

Los quitridios tienen preferencia por ciertas características de los ambientes acuáticos donde se desarrollan sus huéspedes, por ejemplo, pH entre 5-10, temperaturas entre 4 y 20 °C aproximadamente y áreas de precipitaciones a partir de 900 mm anuales.



Ciclo del quitridio en un anfibio (Tomado de <http://mcdougald.blogspot.com/2005/09/frog-fungus-batrachochytrium.html>)

COMO AFECTA A LOS ANFIBIOS

El hongo produce alteraciones en las capas de células epidérmicas como hiperqueratosis, hiperplasia irregular focalizada, espongiosis, erosiones y ulceraciones ocasionales. En lesiones leves la hiperqueratosis está focalizada a las zonas donde se ubican los esporangios, en infecciones graves la hiperqueratosis es encontrada en toda la superficie epitelial del individuo.



Piel externa de rana infectada con esporangios (Fotografía electrónica, Berger y Hyatt, 2004)

Además las bacterias pueden colonizar los espacios afectados y crecer en el esporangio vacío.

Estas alteraciones de la piel interfieren en:

- * La circulación y mantenimiento del agua y los electrolitos.
- * La respiración.
- * El rol de la piel como barrera contra las toxinas y agentes de infección.
- * El comportamiento

IDENTIFICACION DE QUITRIDIO EN ANFIBIOS

HISTOLOGÍA

Mediante cortes histológicos en parches de piel de los anfibios y tinción con hematoxilina-eosina o PAS



Corte histológico de piel de rana. Se observan esporangios con esporas (Ghirardi et al. 2009)

TECNICAS MOLECULARES

- * qPCR a partir de hisopados de piel de los anfibios

OBSERVACION DEL HONGO A OJO DESNUDO EN ADULTOS



Renacuajo con quitridiomycosis en *Rana muscosa* (Fellers, 2007)

OBSERVACION DEL HONGO A OJO DESNUDO EN RENACUAJOS

- * La pérdida de la pigmentación en la región bucal es un indicador potencial de quitridiomycosis

SIGNOS EXTERNOS EN LA PIEL

Ulceraciones, Desprendimientos, Decoloración



Algunos síntomas terminales de la enfermedad: ojos deprimidos y semicerrados; pérdida de piel engrosada (extremo postero superior) (Berger y Hyatt, 2004)

SIGNOS COMPORTAMENTALES

Aletargamiento, Inapetencia, Adelgazamiento



Postura agónica típica de individuos infectados con quitridio (Bosch et al. 2003)

IMPORTANTE

COMO DESINFECTAR EL MATERIAL DE CAMPO CUANDO SE TRABAJA EN HUMEDALES (protocolo propuesto por Speare et al., 2004)

Se presenta el protocolo para dos patógenos que afectan anfibios: Quitridio y Ranavirus.

PROPÓSITO	DESINFECTANTE	CONCENTRACIÓN	TIEMPO	PATÓGENO	
Desinfección equipo tipo quirúrgico (pinzas, tijeras, etc.)	Etanol	70 %	1 minuto	Quitridio	
				Ranavirus	
Desinfección equipo de colecta y recipientes de colecta	Hipoclorito de sodio (Lavandina doméstica)	4 %	15 minutos	Quitridio	
				Ranavirus	
	Secar completamente	Calor	60° C	3 horas ó más	Quitridio
				5 minutos	Quitridio
				15 minutos	Ranavirus
Calor	37° C	4 horas	Quitridio		
			1 minuto	Ranavirus (solamente)	
Desinfección de botas/waders	Hipoclorito de sodio (Lavandina doméstica)	4 %	15 minutos	Quitridio	
				Ranavirus	
Desinfección de prendas ó telas usadas en el campo	Agua caliente	60° C ó más	5 minutos	Quitridio	
			15 minutos	Ranavirus	

COMO PROCEDER ANTE EL ENCUENTRO DE EJEMPLARES DE ANFIBIOS MUERTOS O CON SIGNOS SOSPECHOSOS DE ENFERMEDAD

1. Recoger el ejemplar o sus restos usando guantes desechables e introducirlo en una bolsa de plástico nueva, sin que entre en contacto con otros ejemplares u objetos.
2. Si se trata de un ejemplar aún vivo, o de un resto muy fresco, almacenarlo a baja temperatura (unos 6-8 °C) hasta realizar el envío. Si el envío no puede realizarse a las pocas horas, fijar el ejemplar o los restos en alcohol al 70% antes de realizar el envío.
3. Si se trata de un ejemplar o resto encontrado en mal estado, fijarlo en formal al 4% antes de realizar el envío.
4. Enviar el material a un experto. El envío debe realizarse lo antes posible y debidamente compactado para impedir el contacto del material biológico con el exterior.

LITERATURA

Berger L. y A. Hyatt. 2004. Chytridiomycosis (Amphibian chytrid fungus disease). <http://www.environment.gov.au/biodiversity/invasive/publications/c-diseases/factsheet.html>
 Bosch, J. 2003. Nuevas amenazas para los anfibios: enfermedades emergentes. MUNIBE (Suplemento). Donostia San Sebastián. 16: 55-71
 Ghirardi R., J. Lescano, M.S. Longo, G. Robledo, M. Steciw y M.G. Perotti. 2009. *Batrachochytrium dendrobatidis* in Argentina: First record in *Lepidodactylus gracilis* and another record in *Leptodechys ocellata*. Herp. Rev. 40: 175-176.
 Fellers G. 2007. http://www.herpetology.org.au/files/main.php?2007/Fellers_et_al_2007
 Speare R., L. Berger, L.F. Skerratt, R. Alford, D. Menzies, S. Cashins, N. Kenyon, K. Hauselberger y J. Rowley. 2004. Hygiene protocol for handling amphibians in field studies. <http://www.jcu.edu.au/school/plhm/32125/frog-control/>

CONSULTAS Y ENVÍOS

Dra. María Gabriela Perotti
 Laboratorio de Fisiología
 INIBROA (UNCO-CONICET)
 Quintral 1250
 (8400) Bariloche-Río Negro
 ARGENTINA
 Email: perotigaby@yahoo.com

Lic. Romina Ghirardi
 Instituto Nacional de Limnología
 (INAL-CONICET-UNL)
 Ciudad Universitaria-Paraje "El Pozo"
 (3000) Santa Fe
 ARGENTINA
 Email: romighirardi@yahoo.com.ar

Figura 18. Folleto informativo sobre quitridiomycosis elaborado para presentar en la Delegación Patagonia de Parques Nacionales y en el Centro Regional Universitario Bariloche en el marco de este trabajo.

QUITRIDIOMICOSIS y RANAVIRUS

Si Ud. sale de muestreo, pesca deportiva o camping debe saber:

Existe un hongo denominado quitridio (*Batrachochytrium dendrobatidis*) y un virus (Iridoviridae) del genero *Ranavirus*, que producen altos índices de mortalidad en organismos vivos. El quitridio solo parasita a los anfibios, a través de la invasión de la piel de estos vertebrados, tanto en renacuajos como adultos, produciendo lo que se denomina QUITRIDIOMICOSIS. El RANAVIRUS afecta tanto a peces, anfibios como reptiles

¿Cómo afectan a los anfibios?

Los anfibios infectados con Quitridiomycosis generalmente muestran lesiones en la piel, pérdida de pigmentación, aletargamiento, inapetencia, adelgazamiento y muerte.

Se cree que la muerte es causada porque la proliferación del hongo hace imposible la respiración a través la piel. Esta enfermedad es responsable de la disminución dramática o incluso de extinciones, en poblaciones de anfibios alrededor del mundo.

El *Ranavirus* se evidencia por derrames sanguíneos focalizados en los muslos y en la región ventral.



¿Cómo evitar propagarlas?

Debemos cuidar de no propagarlas en los lugares en los que aún no se han detectado. Estas enfermedades son fácilmente diseminadas a través del movimiento de equipos de muestreo, pesca o camping de un ambiente a otro.

Por ello, luego de utilizar estos equipos, y antes de volver a usarlos, debemos limpiar todos los accesorios que puedan contagiar estas enfermedades (waders, cañas, botas, redes, baldes, instrumental quirúrgico, ropas, botes etc.)

IMPORTANTE Como desinfectar su equipo:

PROPÓSITO	DESINFECTANTE	CONCENTRACIÓN	TIEMPO	PATÓGENO
Desinfección equipo tipo quirúrgico (pinzas, tijeras etc.)	Etolol	70 %	1 minuto	Quitridio Ranavirus
Desinfección equipo y recipientes de colecta	Hipoclorito de sodio (Lavandina doméstica)	4 %	15 minutos	Quitridio Ranavirus
	Secar completamente		3 horas o más	Quitridio
	Calor	60 °C	5 minutos	Quitridio
	Calor	37 °C	15 minutos	Ranavirus
	Calor	37 °C	4 horas	Quitridio
Desinfección de botas/waders	Esterilización con RUV		1 minuto	Ranavirus (solamente)
	Hipoclorito de sodio (Lavandina doméstica)	4 %	15 minutos	Quitridio Ranavirus
Desinfección de prendas o telas usadas en el campo	Secar completamente		3 horas o más	Quitridio
	Agua entiente		5 minutos	Quitridio
			15 minutos	Ranavirus

Para mayor información diríjase a la Dra. María Gabriela Perotti
Laboratorio de Fotobiología - INIBIOMA (UNCO-CONICET)
Quintral 1250 Bariloche. Email: perotigaby@yahoo.com

COMITÉ DE SEGURIDAD, SALUD OCUPACIONAL Y CALIDAD



INIBIOMA

Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente



Figura 19. Folleto informativo sobre quitridiomycosis publicado el Área de Seguridad e Higiene del Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente [INIBIOMA (UNCO-CONICET)]. Disponible en http://www.comahue-conicet.gob.ar/inibioma/seguridad_higiene.php

Figura 20 (continúa en la página siguiente).

2010 - "Año del Bicentenario de la Revolución de Mayo"



Ministerio de Turismo
Administración de Parques Nacionales
Ley N° 22.351

000774

SAN CARLOS DE BARILOCHE, 16 NOV 2010

VISTO, la peligrosidad que las enfermedades "Quitridiomycosis" y "Ranavirosis" representan para las poblaciones de anfibios según consta en el informe que cursa por TIN° 5634/10, y

CONSIDERANDO:

QUE, en el Parque Nacional Nahuel Huapi aún no se ha detectado la mencionada enfermedad, ni tampoco casos de afecciones provocadas por otros agentes patógenos en las poblaciones de anfibios.

QUE, en el Parque Nacional Nahuel Huapi es reservorio de las únicas poblaciones del anfibio microendémico *Atelognathus nitoi* (rana del Challhuaco) y de otros endemismos regionales.

QUE, la ocurrencia de estas enfermedades pondrían en serio riesgo de extinción a las poblaciones de rana del Challhuaco y de las demás especies de anfibios.

QUE, en el Parque Nacional Nahuel Huapi existen los recursos humanos y operativos para garantizar la implementación de medidas tendientes a los cuidados necesarios para evitar que la "Quitridiomycosis" y la "Ranavirosis" ingresen y contagien a las mencionadas poblaciones.

QUE la medida que se adopta halla su sustento legal en las facultades conferidas por Decreto N° 1375/96.

Por ello,

EL INTENDENTE DEL PARQUE NACIONAL NAHUEL HUAPI

DISPONE:

ARTICULO 1°.- APROBAR la implementación del protocolo "Como desinfectar el material de campo cuando se trabaja en humedales" el cual se adjunta como parte integrante de la misma.

ARTICULO 2°.- NOTIFIQUESE al Jefe del Dpto. Incendios, Comunicaciones y Emergencias, Gpque. Pedro Curuhual. Gírese copia al Dpto. de Protección y Guardaparques, a las Divisiones Patrimonio y Manejo de Recursos, a la Delegación Regional Patagonia.

DISPOSICIÓN N° 000774

JUAN SALGUEIRO
Intendente
Parque Nacional Nahuel Huapi



Ministerio de Turismo
 Administración de Parques Nacionales
 Ley N° 22.351

000774

Informe: Outridiomycosis

Es una enfermedad exclusiva de los anfibios y es causada por el hongo quitridio (*Batrachochytrium dendrobatidis*). Afecta a la piel de sapos y ranas tanto en su etapa de renacuajo como de adulto. Produce lesiones graves en toda la superficie del cuerpo complicándose el cuadro de la enfermedad por la colonización de bacterias, todo lo cual altera la función de la piel como barrera contra toxinas y agentes de infección, en la respiración y en la circulación y mantenimiento del agua de los electrolitos. Los síntomas son aletargamiento, inapetencia y adelgazamiento, seguido por la muerte del individuo.

Esta enfermedad significa un serio riesgo para las poblaciones de anfibios, existiendo numerosos casos de extinciones locales causadas por ella, incluso en Argentina.

El hongo vive en el agua y puede ser transportado accidentalmente en equipos utilizados en cuerpos de agua.

El PNNH es reservorio de las únicas poblaciones del mundo del microendemismo *Atelognathus nitoi* (rana del chalhucaco) y de poblaciones de endemismos regionales, por ello las acciones para la conservación de la rana del Chalhucaco y de los anfibios en general es prioritaria y en este sentido se sugieren las siguientes

recomendaciones:

1. Evitar el intercambio de equipos para el combate de incendios a otras áreas, especialmente al Parque Nacional Laguna Blanca.
2. Aplicar obligatoriamente el protocolo "Como desinfectar el material de campo cuando se trabaja en humedales" (Speare et al. 2004. Hygiene protocol for Harding amphibians in field studies), el cual se adjunta como anexo del presente.

Estas recomendaciones fueron sugeridas, y a nuestra solicitud por la Dra. M. Gabriela Perotti de Fotobiología (UN del Comahue- INIBIOMA-CONICET) y la Dra. Romina Ghirardi del Instituto Nacional de Limnología (INALI-CONICET-UN del Litoral).

Susana Seijas
 Div. Manejo de Recursos
 TEN° 5634/10

1/2


COMO DESINFECTAR EL MATERIAL DE CAMPO CUANDO SE TRABAJA EN HUMEDALES
 Protocolo según Speare et al. 2001

Propósito	Desinfectante	Concentración	Tiempo
Desinfección de equipo para combate de incendios y de calzado.	Lavandina doméstica (hipoclorito de sodio)	4%	15 minutos
Desinfección de ropa o telas	Agua caliente	60°C o más	15 minutos

2/2

Figura 20. Disposición N° 00074: protocolo sobre "Como desinfectar material de campo cuando se trabaja en humedales" para el Parque Nacional Nahuel Huapi, notificada al Departamento de Incendios, Comunicaciones y Emergencias, al Departamento de Protección y Guardaparques, a las Divisiones Patrimonio y Manejo de Recursos y a la Delegación Regional Patagonia.

Tesis Doctoral
FCNyM
UNLP

A black and white photograph of two frogs perched on a large, white, ribbed pumpkin. The frog on top is facing right, and the frog on the bottom is facing left. The background is a textured, light-colored surface, possibly sand or soil.

Estudio de quitridiomycosis por
Batrachochytrium dendrobatidis
en anfibios anuros del Litoral,
Cuyo y Patagonia Argentina

Cuyo y Patagonia Argentina
en anfibios anuros del Litoral,
Batrachochytrium dendrobatidis
Estudio de quitridiomycosis por