

# **Quitridiomycosis en anfibios de México: cepas, infección y potencial de riesgo de extinción**

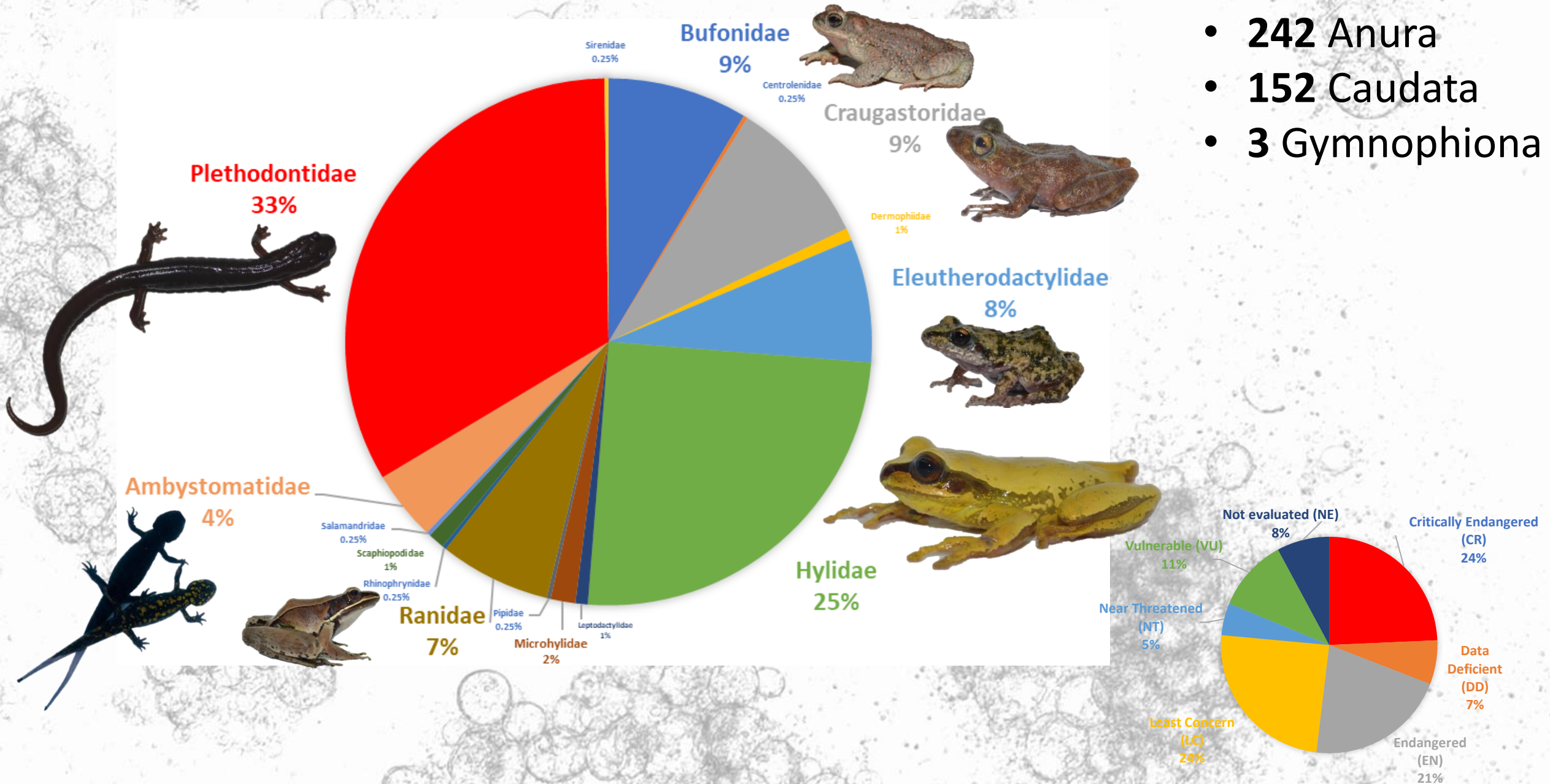
Gabriela Parra-Olea, M. Delia Basanta, Eria Rebollar  
Instituto de Biología, UNAM





- **397** Amphibian species (the **5th** richest in terms of **amphibian** biodiversity)

- **242** Anura
- **152** Caudata
- **3** Gymnophiona



# La Quitridiomicosis

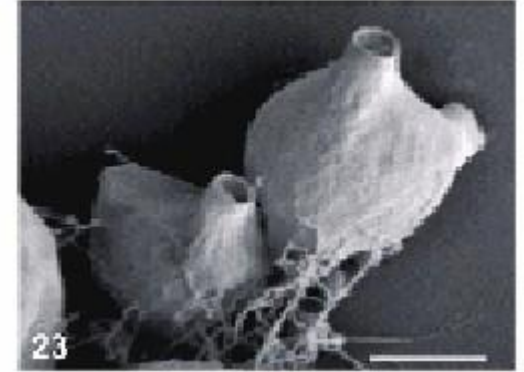
**Enfermedad en la piel causada por un hongo quitridial**

**Los quitridios: grupo grande y diverso de hongos, parásitos de insectos, algas, plantas y nemátodos**

**Todos los tipos de habitat: bosques, desiertos, tundra etc. Substrato y agua**

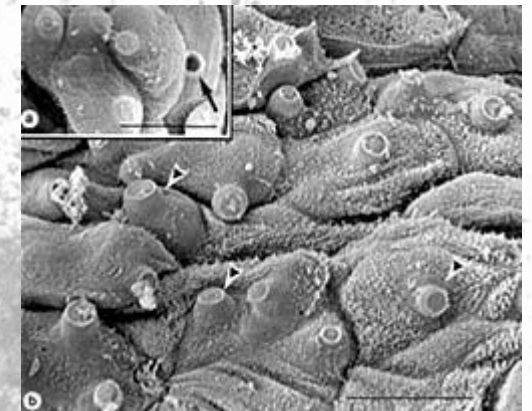
**Zoosporas acuáticas con flagelo**

**Se desarrolla en las áreas queratinizadas de la piel de anfibios (Larvas: disco oral, adultos: piel)**



*Batrachochytrium dendrobatidis*

<http://www.jcu.edu.au/school/phtm/PHTM/frogs/chytrid.jpg>

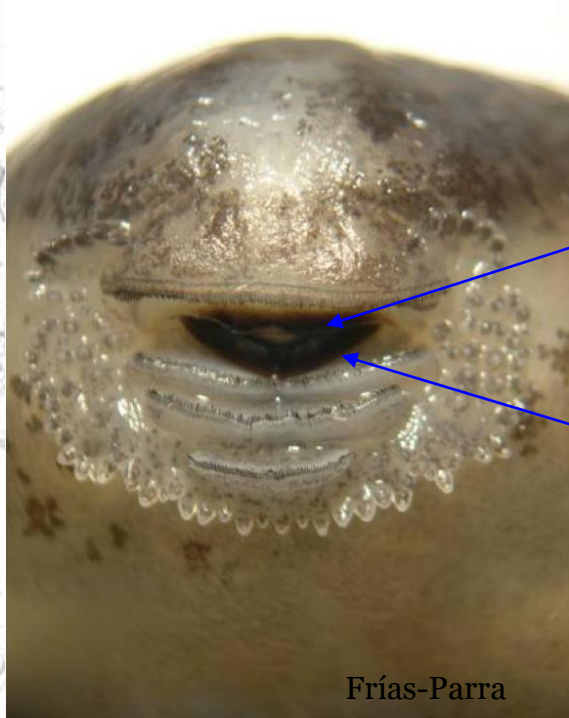


Tubos de descarga de esporas del hongo en la superficie de la piel de anfibios

<http://www.deh.gov.au/biodiversity/invasive/publications/c-disease/images/chytrid3.jpg>



## SINTOMATOLOGIA TIPICA DE QUITRIDIOMICOSIS EN LARVAS (Ejemplificada en *Rana montezumae*)

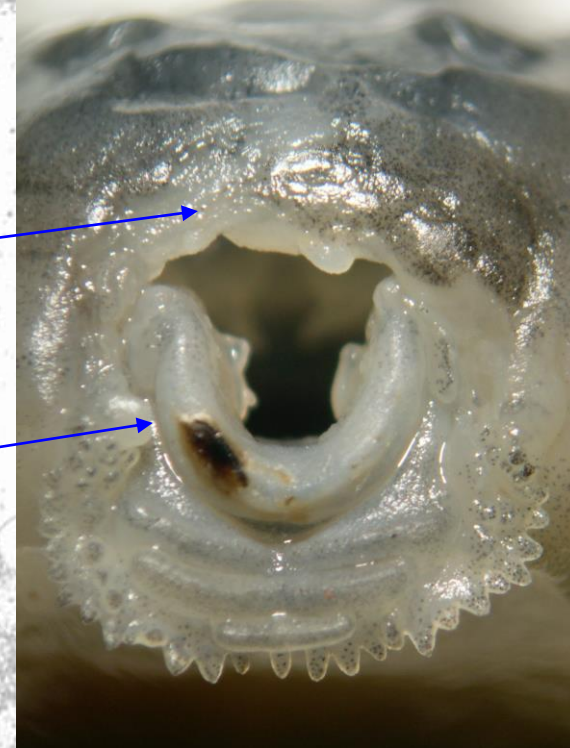


Frías-Parra

Disco oral de una larva  
sana de  
*Rana montezumae*

Pico corneo  
superior

Pico corneo  
inferior



Disco oral de una larva de  
*Rana montezumae*  
infectada por quitridiomycosis  
-Pico corneo superior completamente  
blanco  
-Pico corneo inferior base blanco



# Organismos adultos infectados con quitridiomycosis



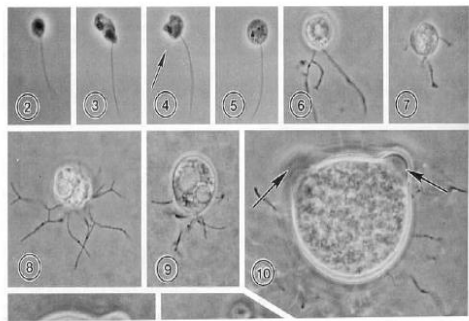
Letargia, Inapetencia, Respuesta motora negativa en miembros posteriores, Muda constante de piel, Muerte.



# Declive de Anfibios

1989 Tercer Congreso Mundial de Herpetología

1990 Workshop on declining amphibian populations. National Research Council



*Batrachochytrium dendrobatidis* 1999

*Batrachochytrium salamandrivorans* 2013

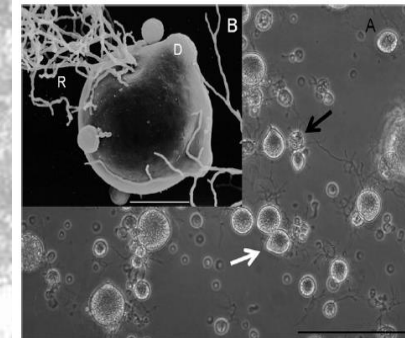


Fig. 2. In vitro culture of *B. salamandrivorans* in TGhL broth at 15 °C. (A) Monocentric thalli predominate, with the rare presence of colonial thalli (black arrow). Sporangia develop discharge tubes (white arrow) to release zoospores (Scale bar, 100 μm.) (B) Scanning electron microscopic image of a mature sporangium with rhizoids (R), discharge tubes (D), and germ tube formation (arrow) (Scale bar, 10 μm.)



# Las Incógnitas

- ¿Qué?
- ¿Porqué?
- ¿Cómo?
- ¿Cuando?
- ¿A que horas?
- ¿Parásito nuevo?
- ¿De donde proviene?
- ¿Cambio climático?
- ¿Sistema immune?
- ¿Porque algunas especies y otras no?



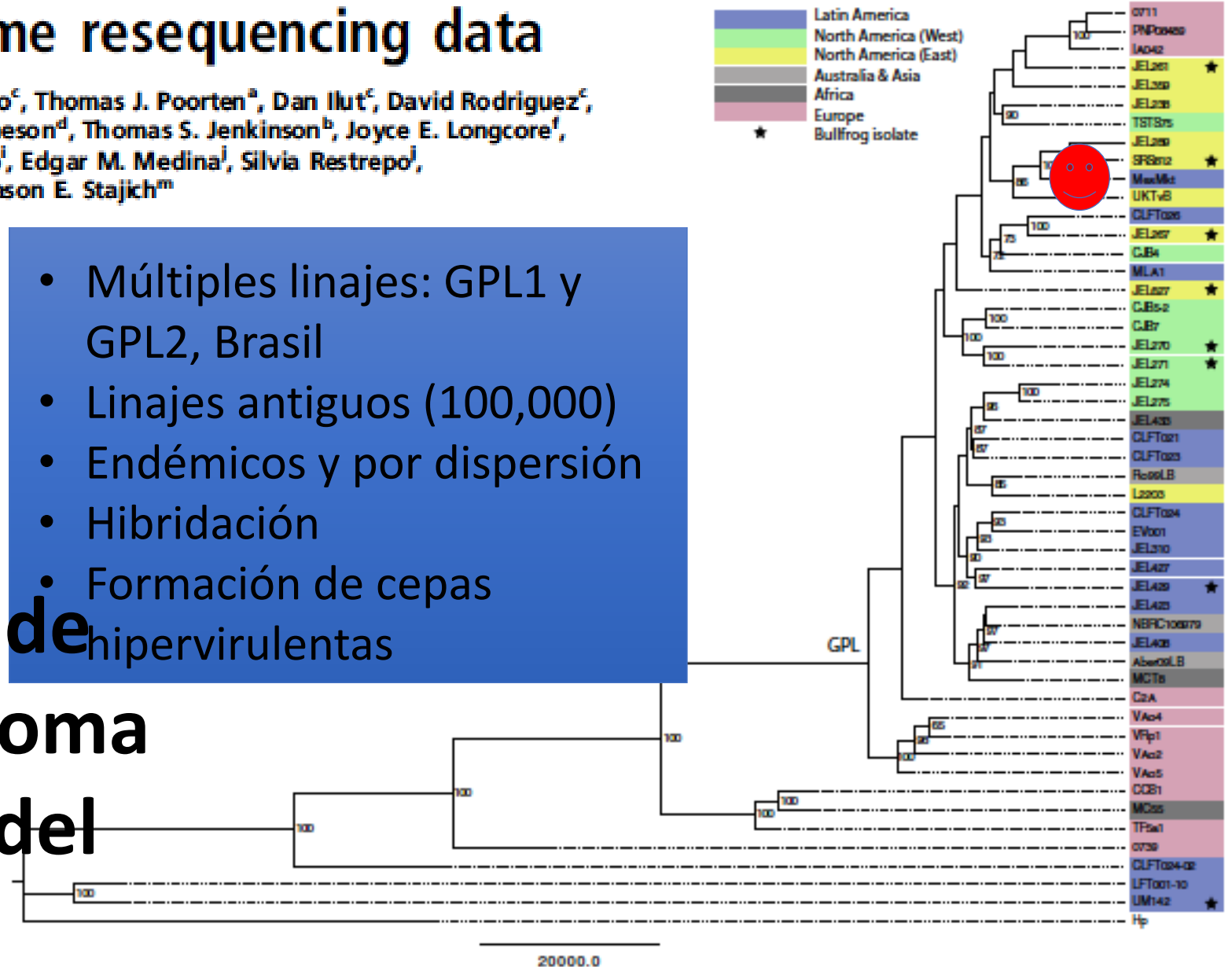
# Complex history of the amphibian-killing chytrid fungus revealed with genome resequencing data

Erica Bree Rosenblum<sup>a,1</sup>, Timothy Y. James<sup>b</sup>, Kelly R. Zamudio<sup>c</sup>, Thomas J. Poorten<sup>a</sup>, Dan Ilut<sup>c</sup>, David Rodriguez<sup>c</sup>, Jonathan M. Eastman<sup>d</sup>, Katy Richards-Hrdlicka<sup>a</sup>, Suzanne Joneson<sup>d</sup>, Thomas S. Jenkinson<sup>b</sup>, Joyce E. Longcore<sup>f</sup>, Gabriela Parra Olea<sup>g</sup>, Luis Felipe Toledo<sup>h</sup>, Maria Luz Arellano<sup>i</sup>, Edgar M. Medina<sup>j</sup>, Silvia Restrepo<sup>j</sup>, Sandra Victoria Flechas<sup>j</sup>, Lee Berger<sup>k</sup>, Cheryl J. Briggs<sup>l</sup>, and Jason E. Stajich<sup>m</sup>

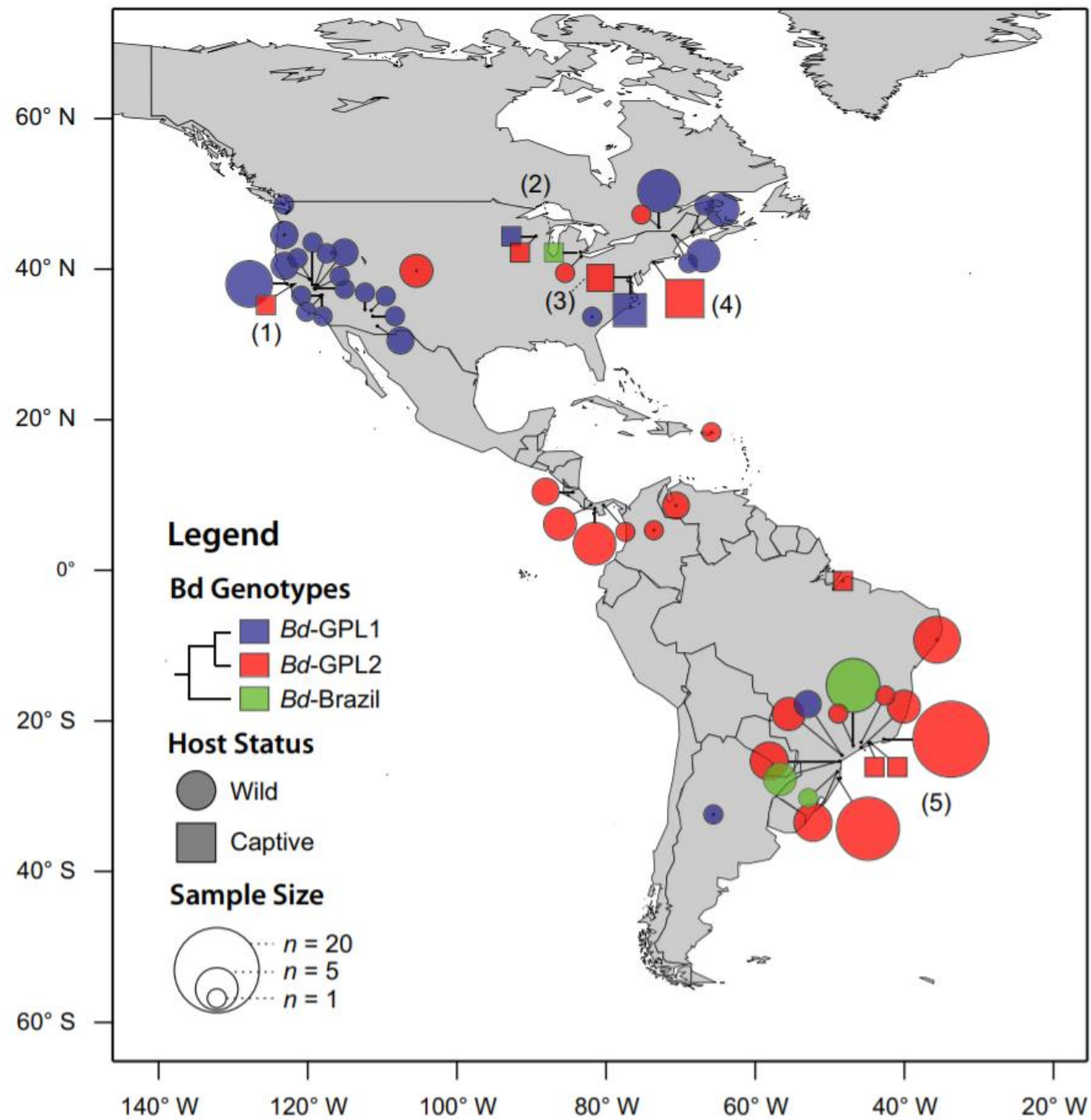
2013

Obtención de más de  
70,000 snp's del genoma  
de 29 cepas de *Bd* del  
mundo.

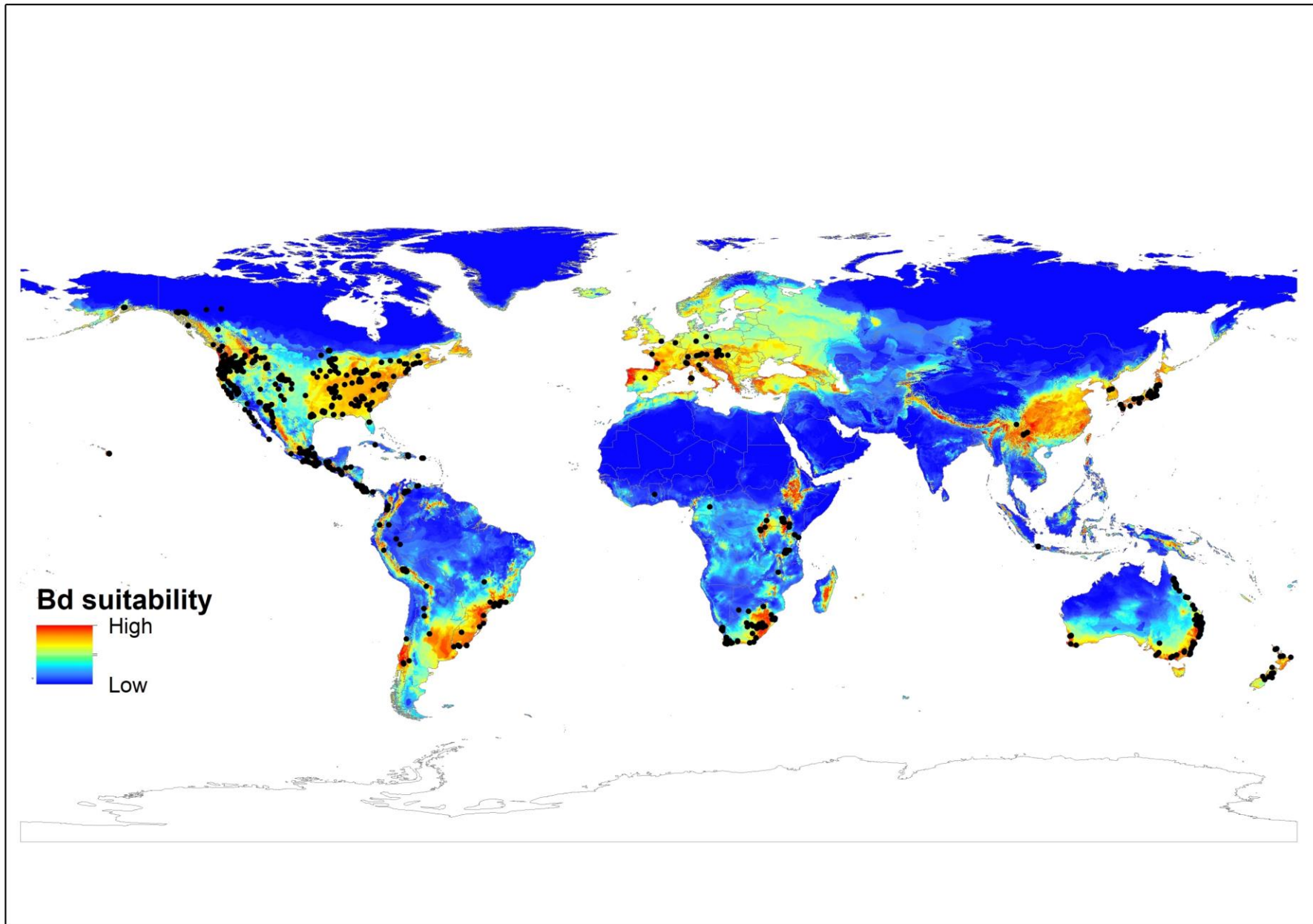
- Múltiples linajes: GPL1 y GPL2, Brasil
- Linajes antiguos (100,000)
- Endémicos y por dispersión
- Hibridación
- Formación de cepas hipervirulentas







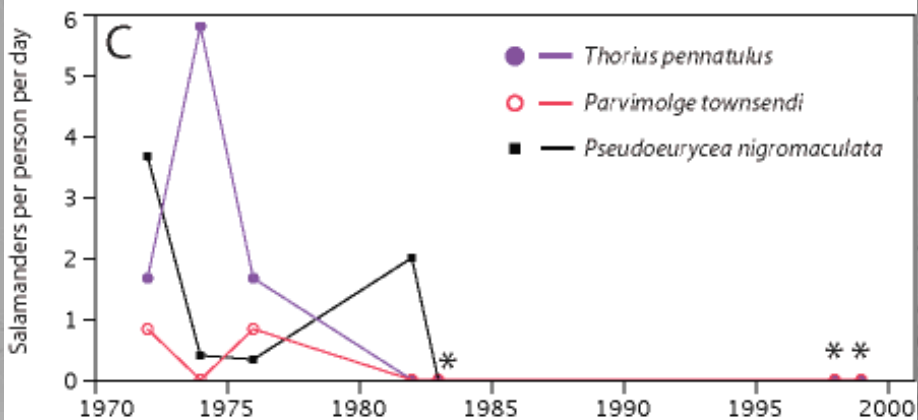
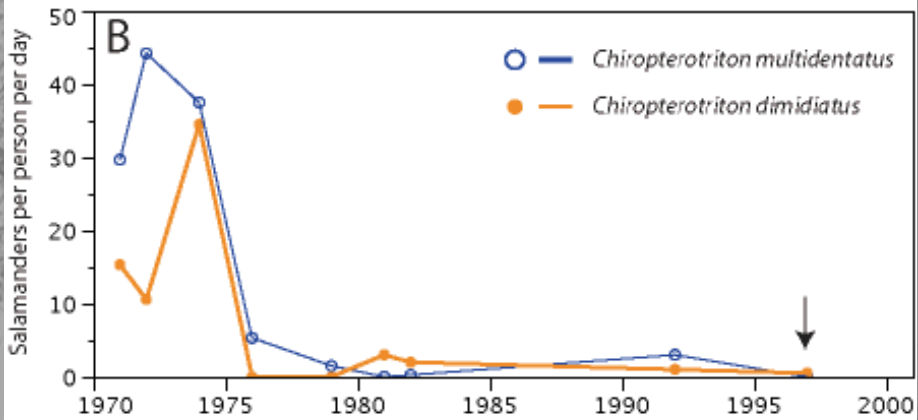
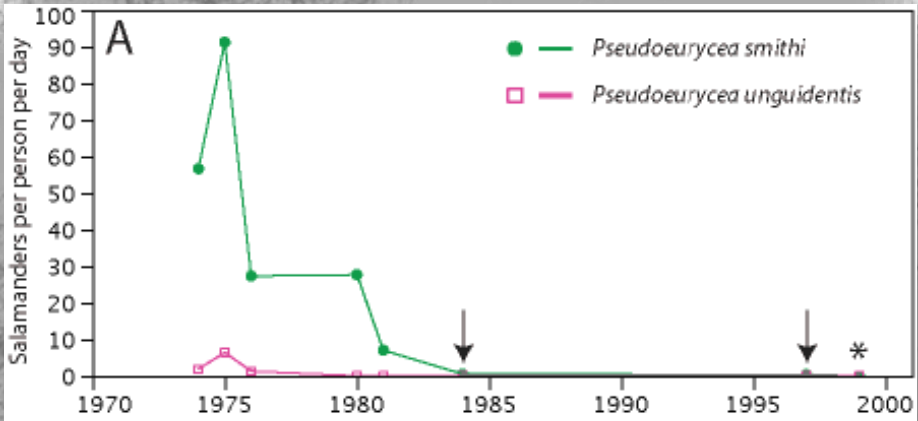
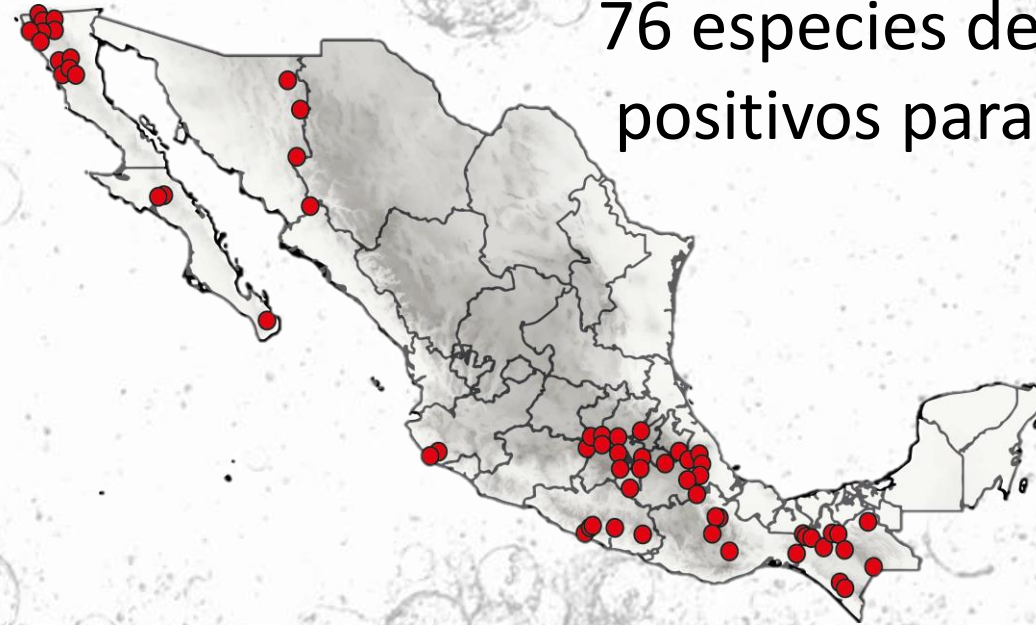
# *Batrachochytrium dendrobatidis*





# Bd en México

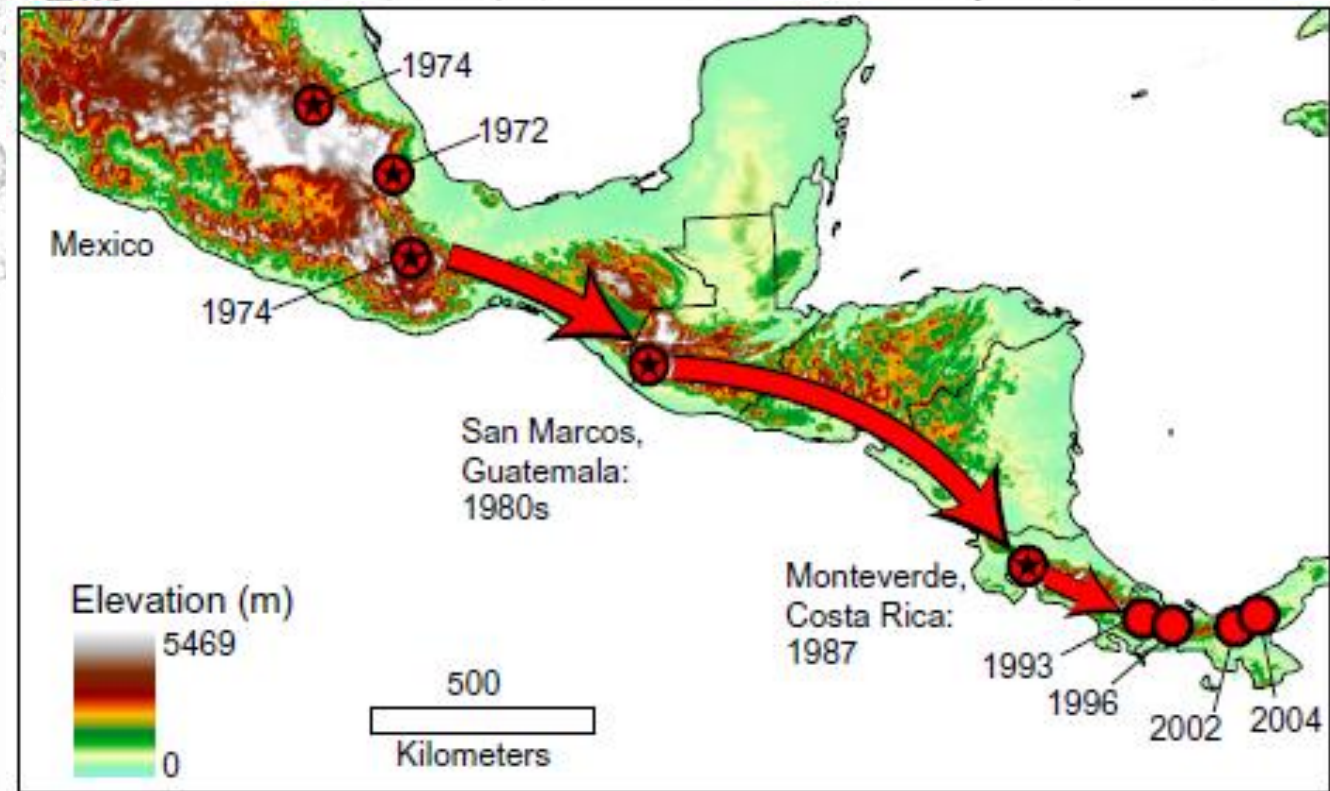
76 especies de anfibios positivos para *Bd*



## Coincident mass extirpation of neotropical amphibians with the emergence of the infectious fungal pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis*

Tina L. Cheng<sup>a</sup>, Sean M. Rovito<sup>b</sup>, David B. Wake<sup>b,c,1</sup>, and Vance T. Vredenburg<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Department of Biology, San Francisco State University, San Francisco, CA, 94132-1722; and <sup>b</sup>Museum of Vertebrate Zoology and <sup>c</sup>Department of Integrative Biology, University of California, Berkeley, CA 94720-3160

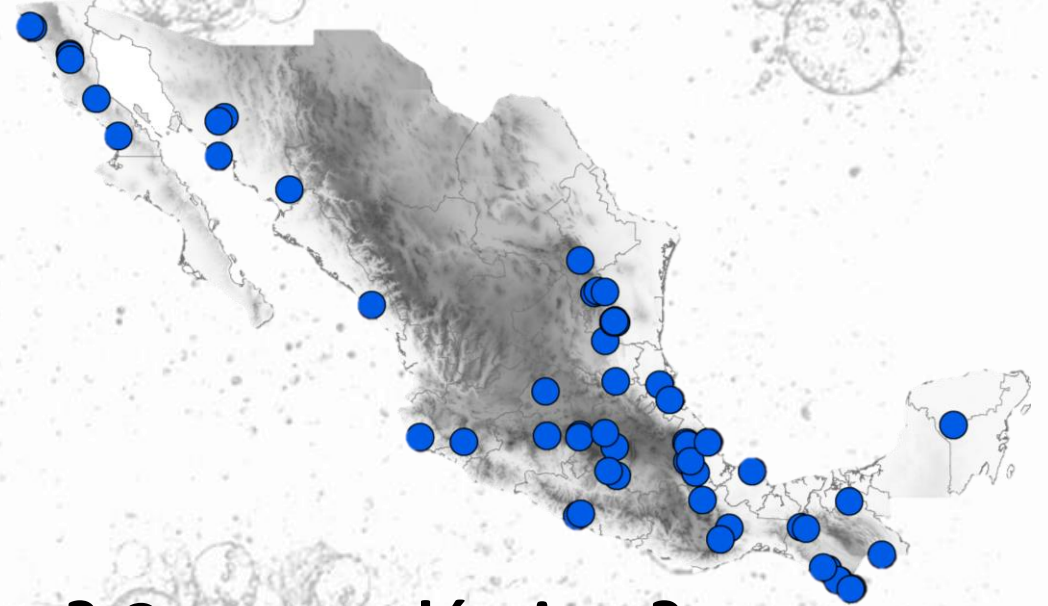


Cheng et al. 2011



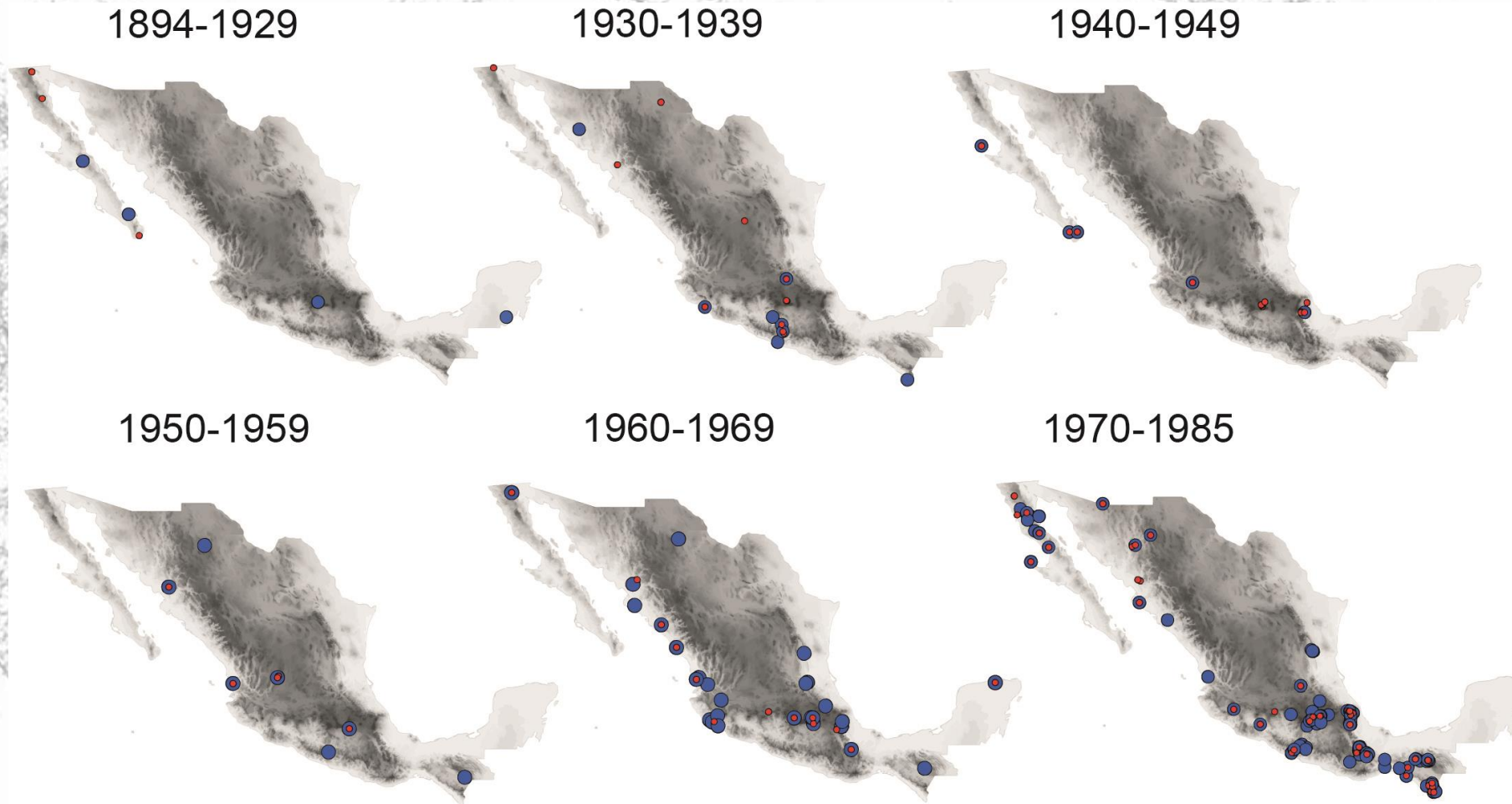
# Las Incógnitas

- ¿Qué?
- ¿Cómo??
- ¿Cuándo???
- ¿Porque????

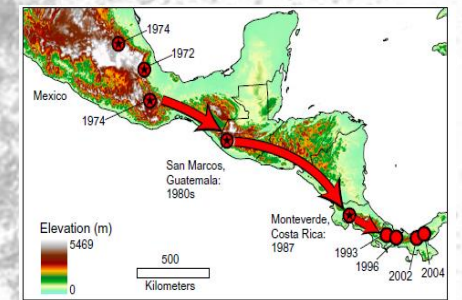


- **Cuántos genotipos de *Bd*, una sola cepa? Cepas endémicas?**
- **De dónde y cuándo llego *Bd* a México?**
- **Una sola introducción? O han sido varios episodios?**
- **Cuál es la relación de los genotipos de *Bd* de México con los del mundo?**

# Historical presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* in Mexico: 125 years of pathogen incidence

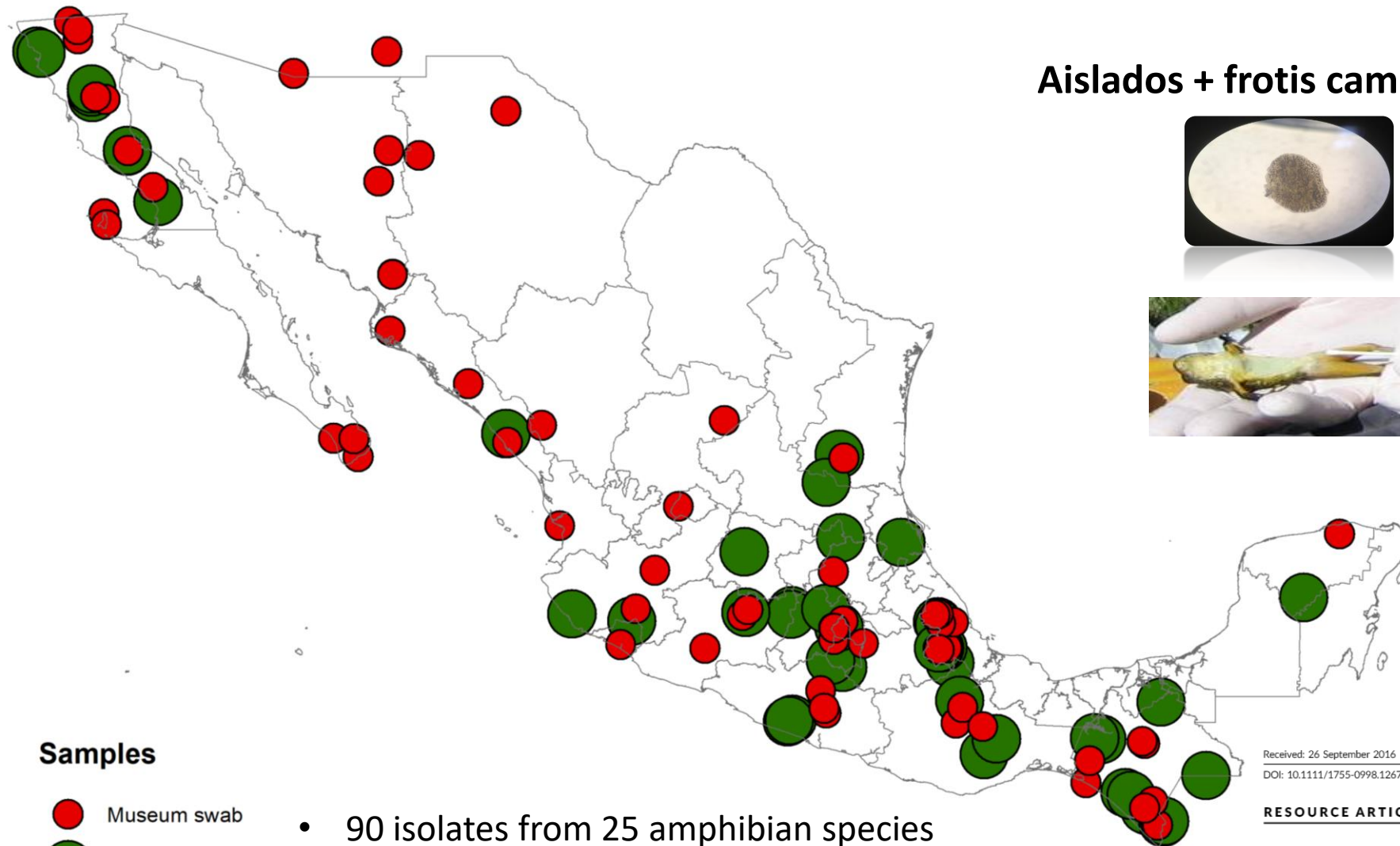


- 141 positivos (prevalencia = 28.3%, CI: 24–32%)
- *Bd* más antiguo en 1894 Baja California Sur.





# Secuenciación masiva: 240 marcadores genoma de *Bd*

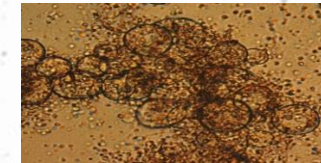
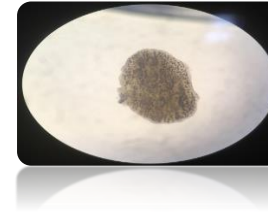


## Samples

- Museum swab
- Isolate/ Field swab
- 90 isolates from 25 amphibian species
- 89 *Bd* positive skin swabs from 19 amphibian species

326 muestras

Aislados + frotis campo + frotis históricos (>150 EG)



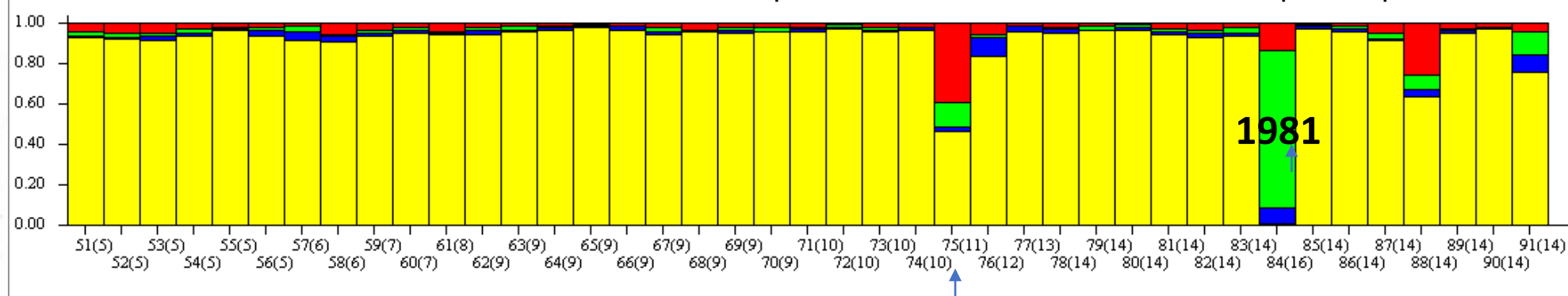
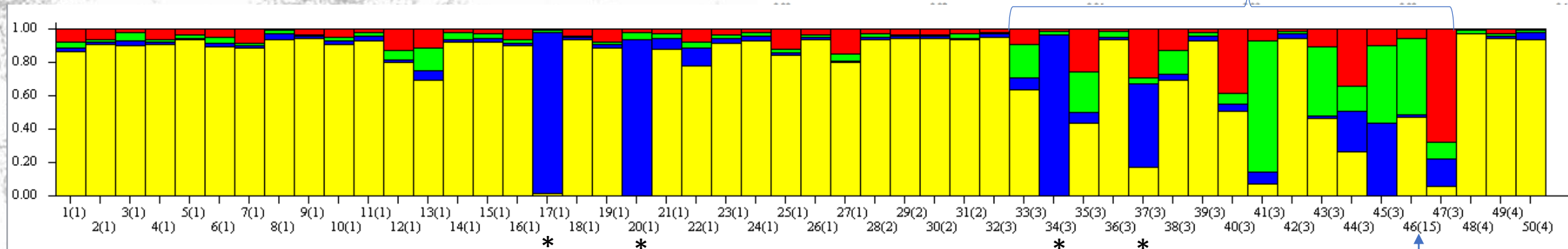
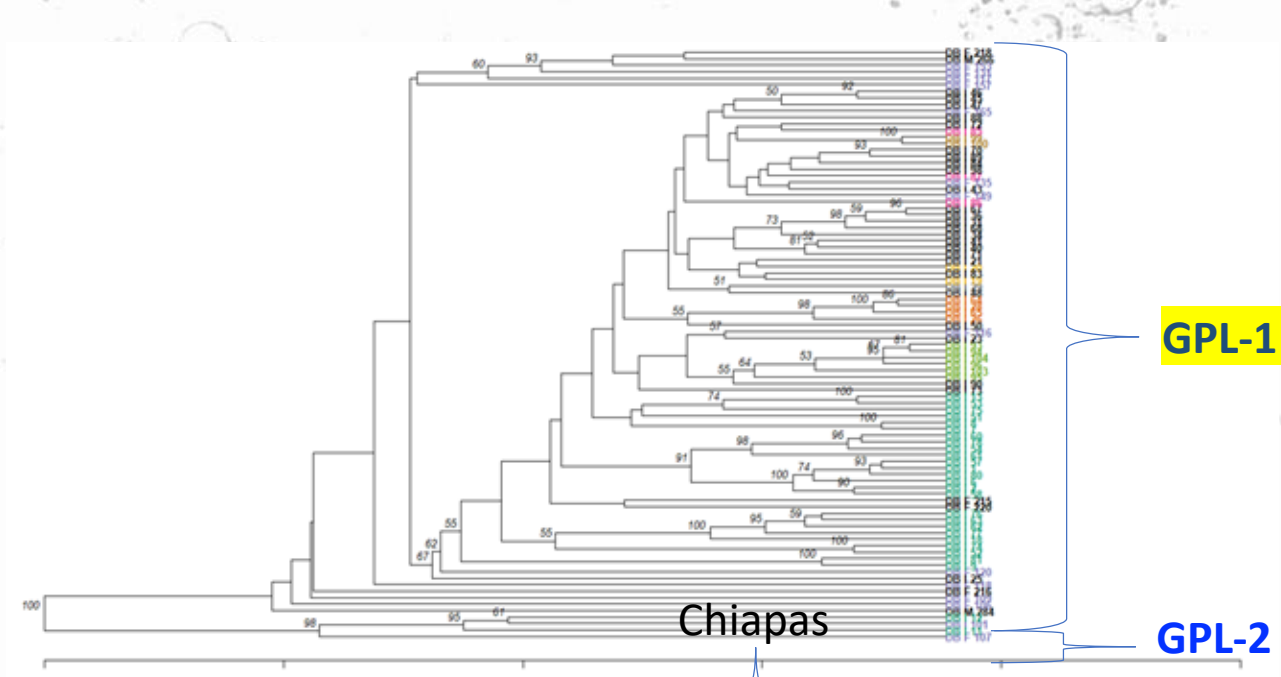
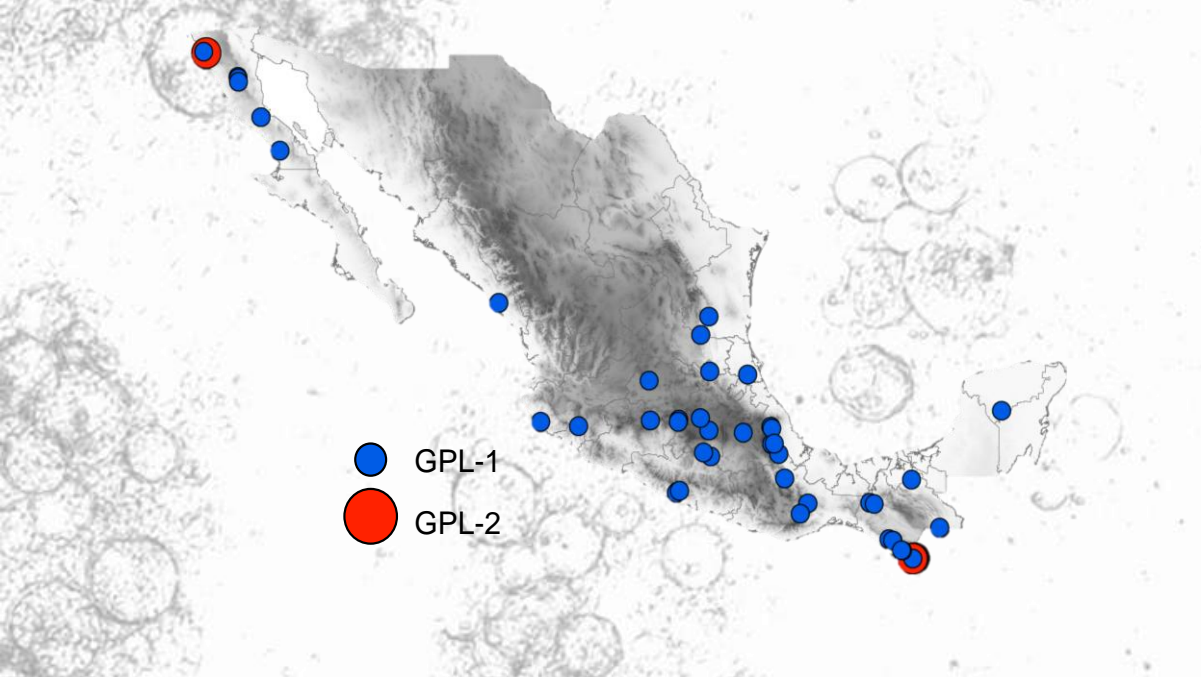
Received: 26 September 2016 | Revised: 26 December 2016 | Accepted: 15 March 2017  
DOI: 10.1111/1755-0998.12675

## RESOURCE ARTICLE

WILEY **MOLECULAR ECOLOGY**  
RESOURCES

**Unlocking the story in the swab: A new genotyping assay for the amphibian chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis***

Allison Q. Byrne<sup>1</sup> | Andrew P. Rothstein<sup>1</sup> | Thomas J. Poorten<sup>1</sup> | Jesse Erens<sup>1,2</sup> |  
Matthew L. Settles<sup>3</sup> | Erica Bree Rosenblum<sup>1</sup>



1975  
2-Verde= histórico?  
4-Amarillo=GPL1  
3-Azul=GPL2  
1-Rojo=??



# Conclusiones *Bd*

- Si hubo un declive dramático de las poblaciones de salamandras en los 80's
- Las especies que vemos hoy son las que resistieron la epidemia y viven con intensidades bajas de *Bd*
- *Bd* presente en México desde 1890 (no llegó en los 70's)
- Actualmente hay una cepa de *Bd* ampliamente distribuida GPL1
- La cepa GPL2 está presente solamente en dos localidades (Baja California y Chiapas) posiblemente por una introducción más reciente
- Nos falta tener datos genéticos de más muestras históricas

# *Batrachochytrium Salamandrivorans*

## 2013

*Salamandra salamandra*

- 2010: 96% wild mortality in Netherlands
- 2013 & 2014: wild mortality in Belgium
- 2015: UK (trade) and Germany (captivity)
- 2016: Netherlands, Belgium, Germany (wild)



14 of 55 sites: 3 species



*Ichthyosaura alpestris*

*Lissotriton vulgaris*

Spitzen-van der Sluijs et al. (2016); EID

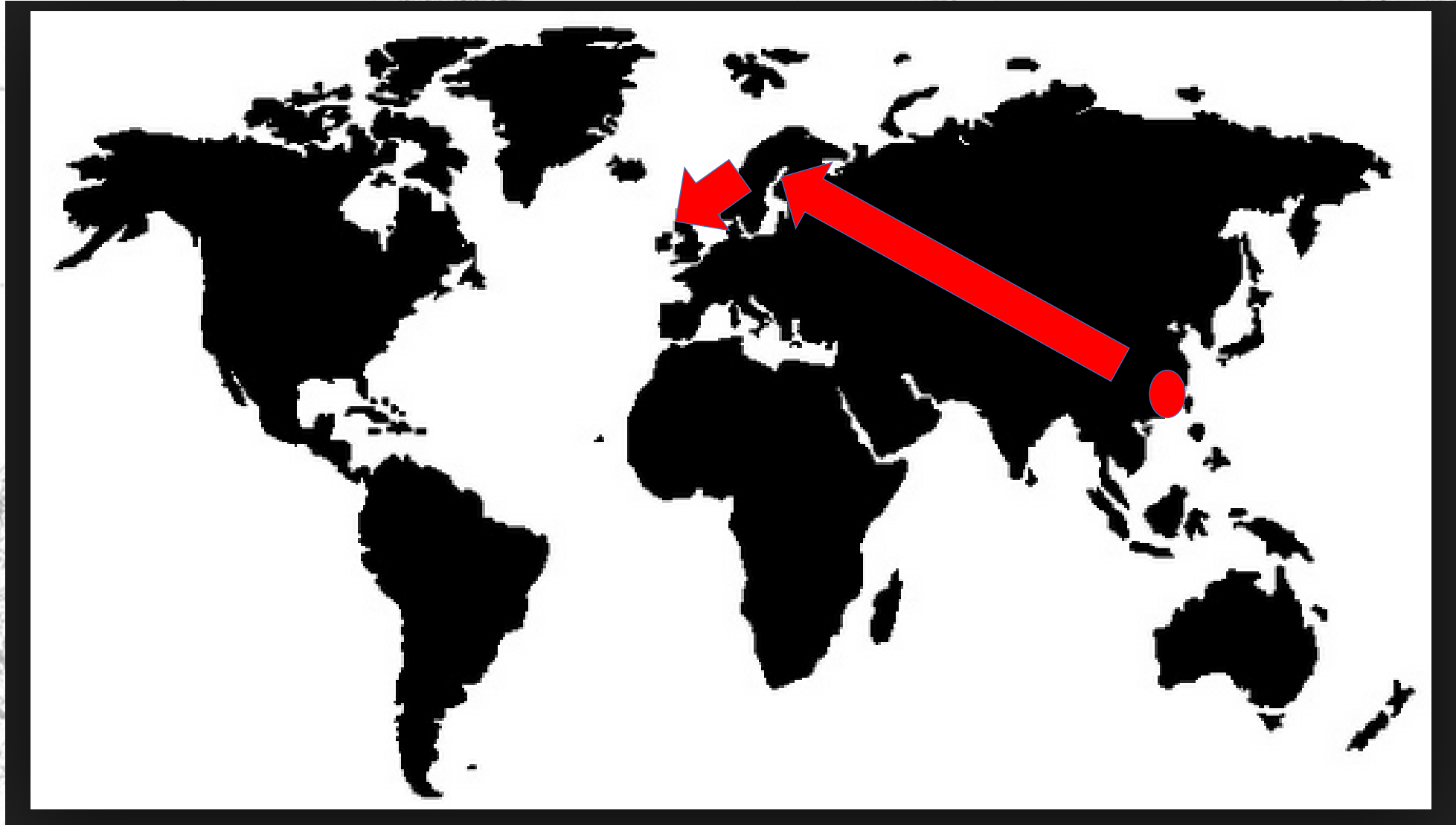


Present in:

wild salamanders in Asia

museum records in Asia >150 yrs

(Vietnam, Thailand, Japan)



# Batrachochytrium Salamandrivorans 2013

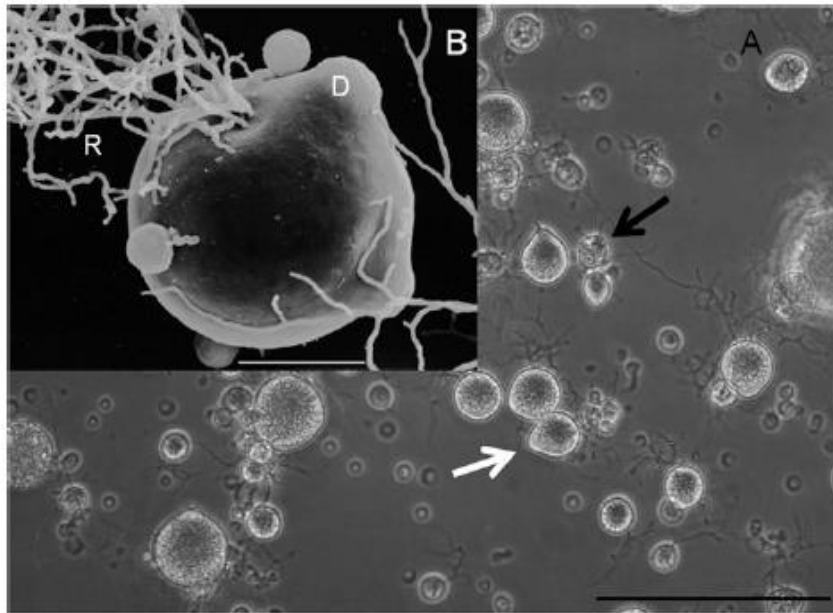
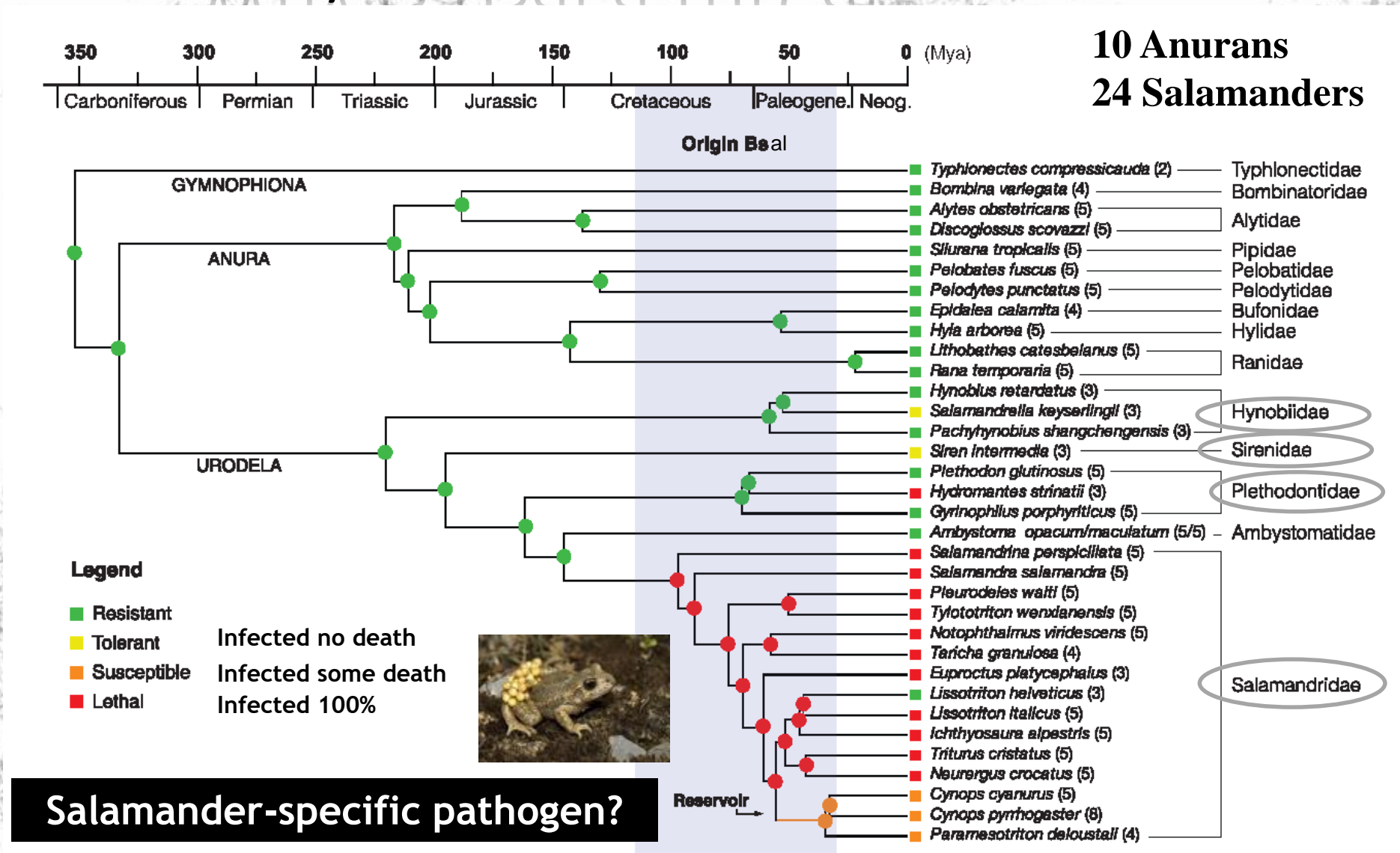


Fig. 2. In vitro culture of *B. salamandrivorans* in TGHl broth at 15 °C. (A) Monocentric thalli predominate, with the rare presence of colonial thalli (black arrow). Sporangia develop discharge tubes (white arrow) to release zoospores (Scale bar, 100 µm.) (B) Scanning electron microscopic image of a mature sporangium with rhizoids (R), discharge tubes (D), and germ tube formation (arrow) (Scale bar, 10 µm.)

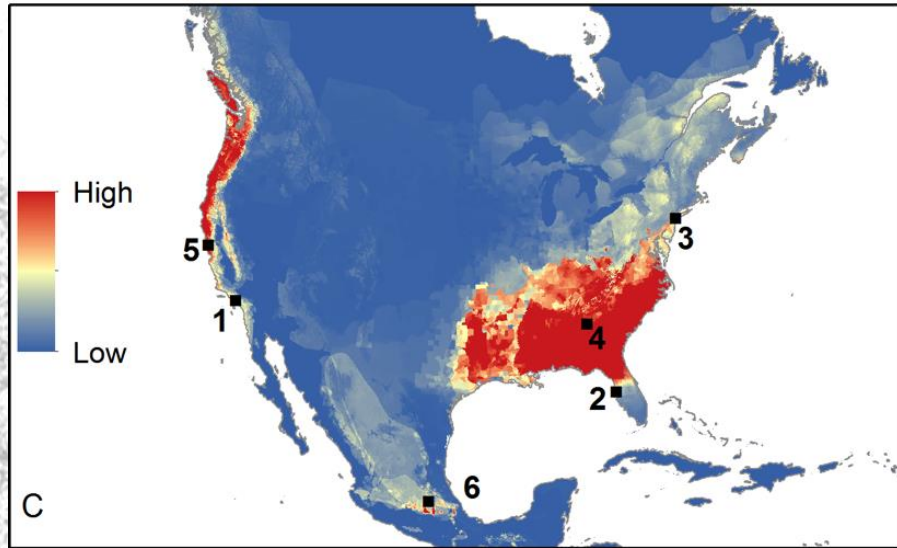
	<i>Batrachochytrium dendrobatidis</i>	<i>B. salamandrivorans</i>	Fuente
Temperaturas de supervivencia y crecimiento	Supervivencia de 4 a 28 °C Crecimiento óptimo entre 17 a 25 °C	Supervivencia desde 5 a 24 °C Crecimiento óptimo entre 10 y 15 °C Habita en temperaturas menores	Piotrowski et al.,(2004). Martel et al., (2013).
Síntomas de infección en los anfibios	Hiperplasia o hiperqueratosis en piel	Solo ulceras en la piel	Martel et al., (2013).
Tamaño de esporangio y zoosporas	40 micras de diámetro en esporangio  Tamaño de zoosporas de 3.0 a 5.0 micras	15.7 a 50.3 micras. de diámetro en esporangio. Promedio de 27.9 micras  Tamaño de zoosporas de 4.0 a 5.5 micras. Promedio de 4.6 micras	Longcore et al., (1999). Martel et al., (2013).
Morfología zoospora	Mayormente esféricas pero también elongadas o ameboides	esféricas	Berger et al., (2005) Martel et al., (2013).
Morfología de desarrollo in vitro	Abundante formación de talo colonial	Abundante formación de talo colonial. Sin embargo, también tiene crecimiento monocentrico (fig. 2.	Berger et al., (2005) Martel et al., (2013).



## Why is Bsal a threat?

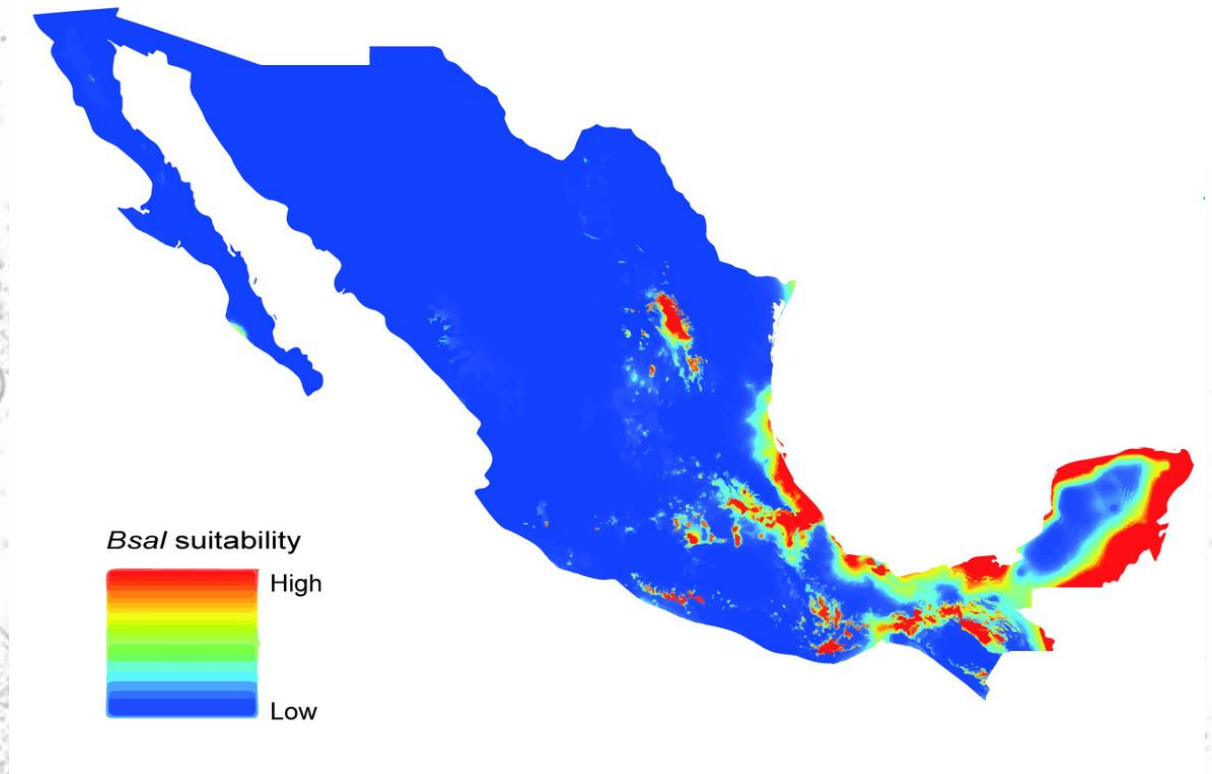


# Risk Model: Yap et al. (2015)

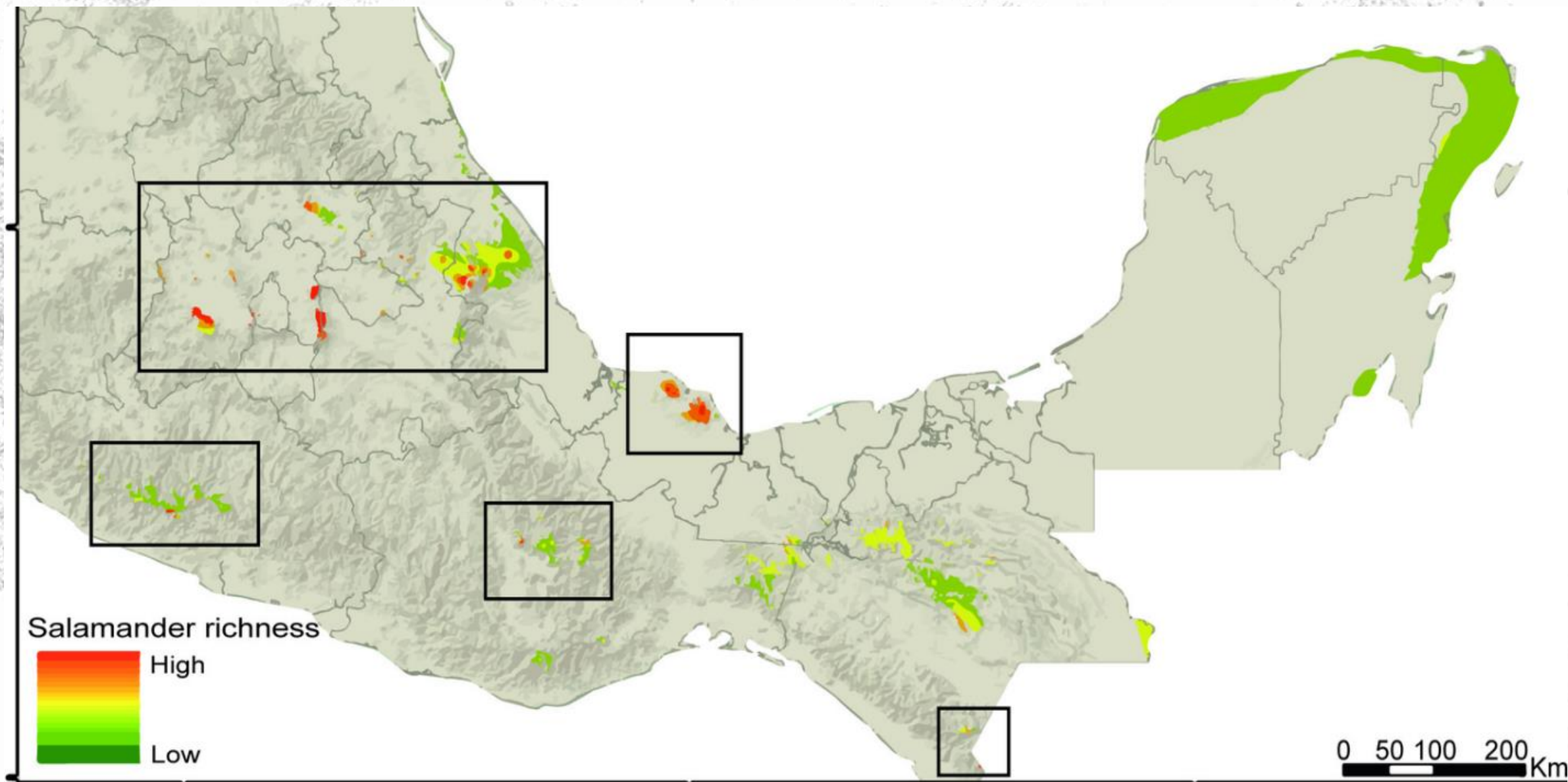


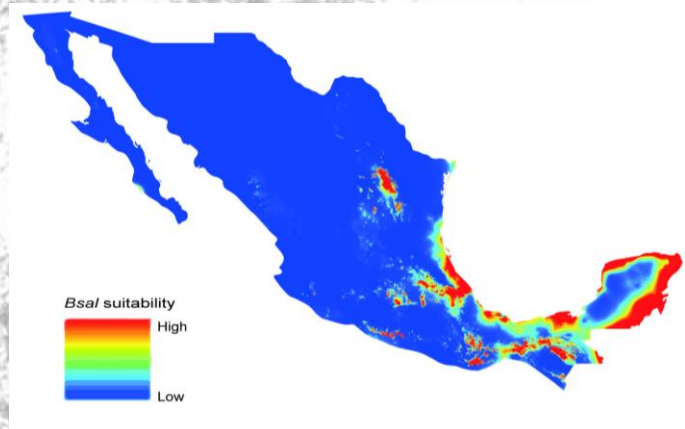
Science

# Risk Model: Basanta et al. (2019)

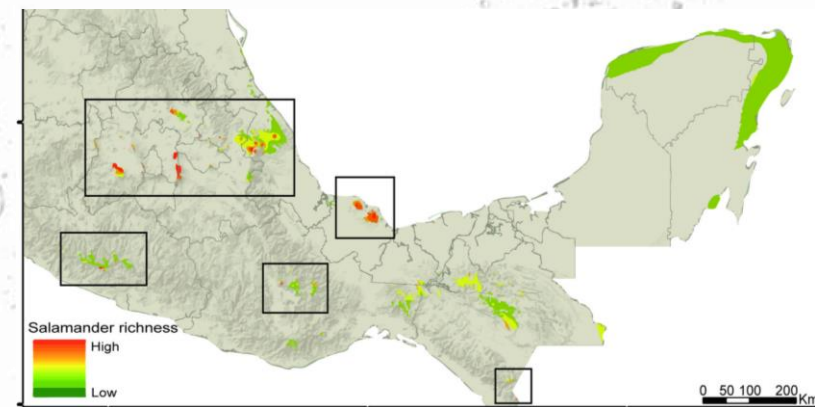
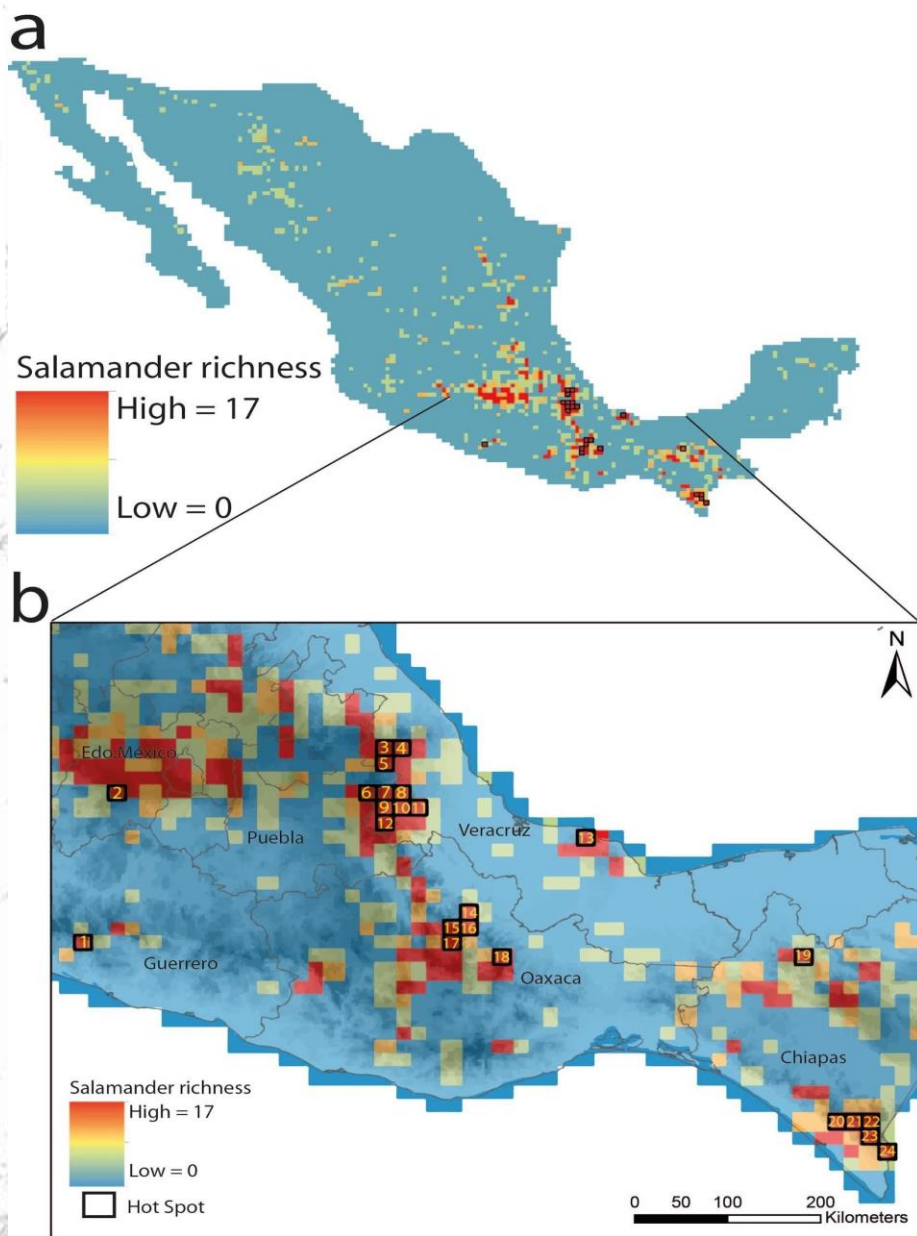








## HOTSPOTS



Unidades Geográficas  
de Conservación



# Bsal National Task Force



Firefox | Archivo | Editar | Ver | Historial | Marcadores | Herramientas | Ventana | Ayuda | Sun 10:39 AM

Invitación- Artículo Bsal - gpar | bsal task force - Norton Safe S | Bsal Task Force - Resources

www.salamanderfungus.org/resources/ | Buscar

Ciclismo | gmail | Facebook | Web of Science [v.5... | Plant Based Whole ... | https://www.conacy... | Cocina | EMIL | Home Feed | Servicio Meteorológ... | Servicios en Línea

**Salamanderfungus.org** | A Coordinated Response to a Devastating Amphibian Disease

About Us | What is Bsal? | **Resources** | Latest Publications | News | How You Can Help | Bsal Europe

Bsal Links

Bsal Strategic Plan

Bsal Rapid Response Plan Template

Bsal Annual Report (2018)

Bsal Annual Report (2017)

Bsal Annual Report (2016)

Positions Statements and Press Releases

Fact Sheets & Flyers

Herp Disease Alert System

Diagnostics Laboratories

Disinfection Procedures

MITTING Q&A SESSIONS HAVE BEEN RESCHEDULED.

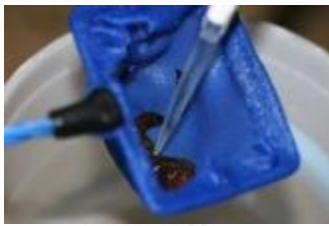
ONDAY, FEB. 8TH, 2 PM ET (CLICK HERE TO REGISTER)

JESDAY, FEB. 9TH, 1 PM ET (CLICK HERE TO REGISTER)

WEDNESDAY, FEB. 10TH, 1 PM ET (CLICK HERE TO REGISTER)

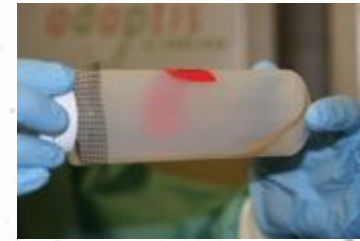
**Bsal Resources**

www.salamanderfungus.org/resources/



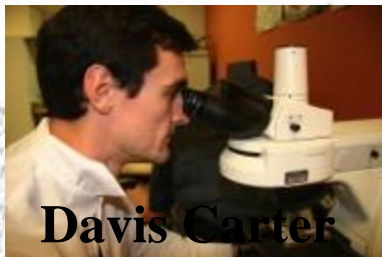
# Methods

Bsal National Task Force:  
Research Working Group



<https://www.youtube.com/watch?v=IMu8Hq2fvZI>

<http://www.salamanderfungus.org>





# North American Species Tested



**Martel et al. (2014)**

**Science**

**Clinical Disease**



**Subclinical Disease  
(Tolerant)**

**Small  $n$  and one dose  
( $5 \times 10^3$  zoospores)**

**Not infected (or cleared it):**





# Results



## Plethodontidae

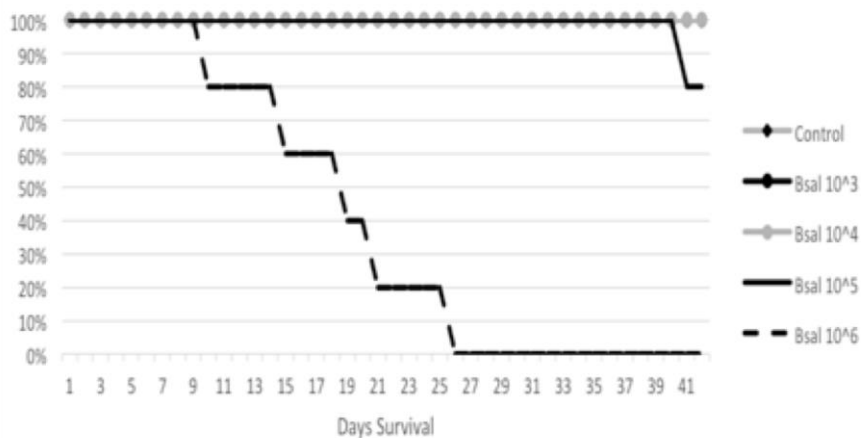
- 1) *Eurycea wilderae*,
- 2) *Aquiloerycea cephalica*
- 3) *Chiropterotriton* spp.

## Salamandridae

- 1) *Notophthalmus perstriatus*,
- 2) *N. meridionalis*,
- 3) *N. viridescens*
- 4) *Taricha granulosa*

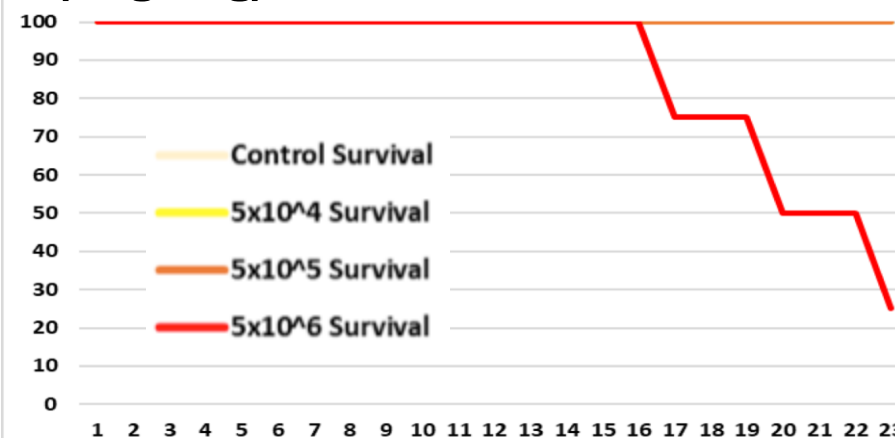
### Captive

#### EUWI Bsal Trial



### (ongoing)

#### Wild EUWI Survival





# Survival for Mexico Species

*AquiloEURYCEA*

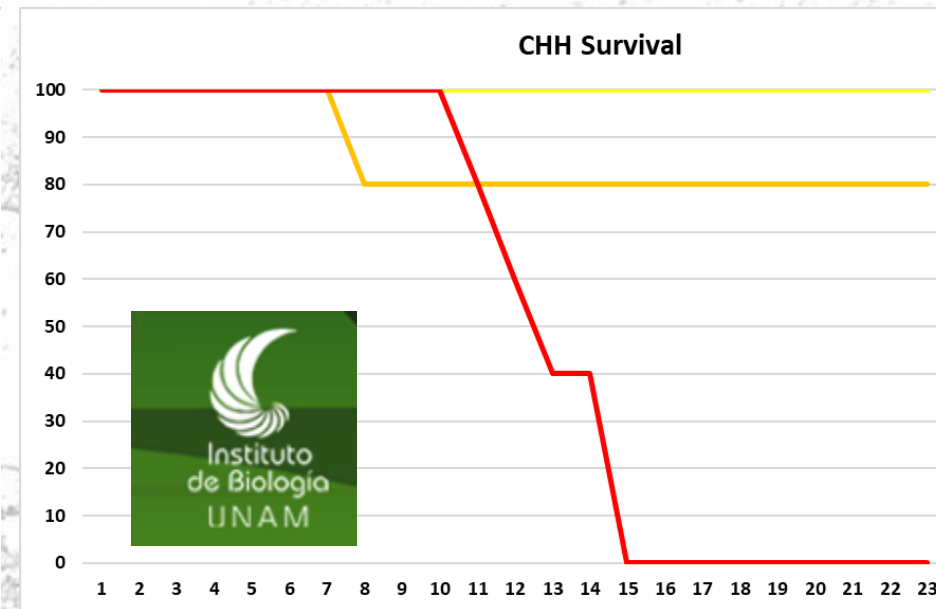
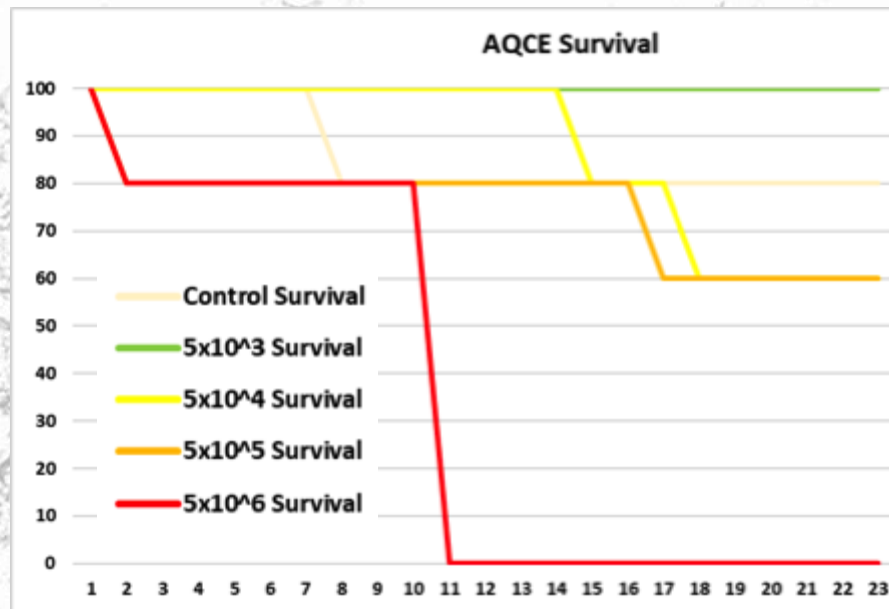


**Dra. Gabriela  
Parra Olea**

*ChIROPTEROTRITON*



**Dr. Becky  
Hardman**



## *Bsal* susceptibility trials with Mexican salamanders

### Developed chytridiomycosis



*Chiropterotriton* sp.  
(Plethodontidae)



*Aquiloeurycea cephalica*  
(Plethodontidae)



Photo by J.P.Claire

*Ambystoma mexicanum*  
(Ambystomatidae)

### *Bsal* carrier

## Imported species

Europe (1spp.)



*Salamandra salamandra*

Asia (13 spp.)

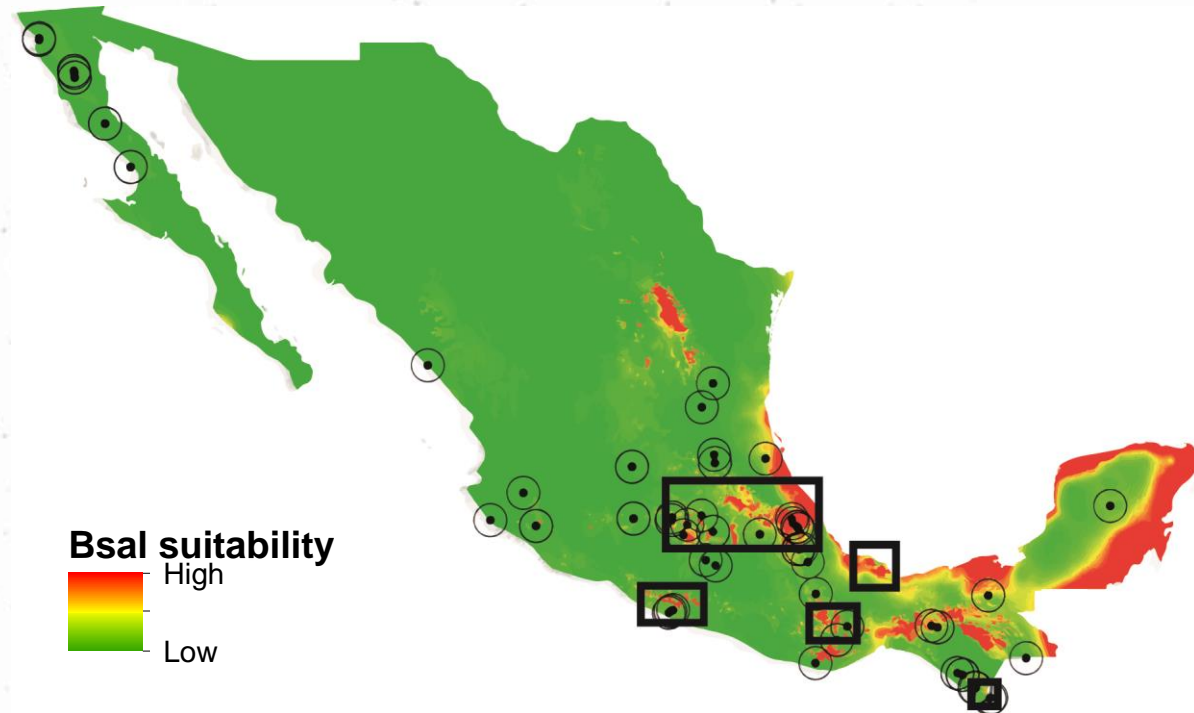


*Bombina orientalis*



*Cynops pyrrhogaster*

60 samples are from *Bsal* potential high-risk zones  
44 amphibian species





# Súplica







Gracias