



**Impacto de radiación ultravioleta y
contaminación en anfibios**

Adolfo MARCO*

Impacto de radiación ultravioleta y contaminación en anfibios

GAKO HITZAK: Anfibioen kontserbazioa, kutsadura, fotobiologia, ekotoxikologia, erradiazio ultramorea.

PALABRAS CLAVE: Conservación de anfibios, contaminación, fotobiología, ecotoxicología, radiación ultravioleta.

KEY WORDS: Amphibians, Hyla meridionalis, Recovery, Status, Distribution, Conservation, Basque Country.

Adolfo MARCO*

LABURPENA

Azken hamarkadetan, anfibio espezie ugari beren populazioen gainbehera larria jasan dute. Ultramore erradiazioaren igoera eta ingurumenaren kutsadura, bakarrik edota beste perturbazio batzuekin bateraturik, zonalde zabaletan biodibertsitatean ematen ari den krisialdiaren erantzule direla dirudi. Anfibioen kontserbazioaren egoeran duen eraginaz gain, ingurumen inpaktu horiek indibiduen beraien konportamendu zein ekologia erantzunak onetik ateratzen dituzte eta ekosistemen funtzionamendua aldatzeko gauza dira. Ingurumen aldaketa horien aurrean, potentzialki eraginkortasun edo tolerantzia estrategien hautaketa-prozedura ebolutibo dagoela garrantzia berekoa da. Enbrialdia, larbaldia eta heldualdia oso babes gutxikoak eta ondorioz, arriskutsuak izatean, eta oso sentiberak diren prozesu biologikoak garatzerakoan, metamorfosis, azaleko arnasketa edota ingurunearekiko ur-trukea sakona kasu, anfibioak, bereziki sentikorrek dira. Aipaturiko ezaugarri erakusten duten filopatria handia eta birkolonizazio ahalmen urria gehitu behar zaizkie. Estresa sortzen duen faktorearen aurrean esposizio bortitza den kasuetan ondorioak letalak izaten dira, baina hain agresibo ez direnetan, efektuak, subletal klinikoak izan ohi dira, hala nola anomaltasunen garapena, mutzio edo minbiziaren genesis, oreka edo motore kontrolaren galera, immune erantzunaren galera, edota beste gaixotasunen agerpena. Esposizio arinek ondorio azpiklinikoak eragin ditzakete, esaterako hormona-disruptzioa, pertzepzio edo jokabidearen aldaketa, garapenaren aldakuntza edo metamorfosiaren perturbazioa.

SUMMARY

During the last decades, several amphibians have suffered severe population declines. The increase of ultraviolet radiation (UVR) and environmental pollution, alone or combined with other perturbations, seem to be responsible of such biodiversity crisis in some areas. Despite of their effect on amphibian conservation, these environmental perturbations are altering individual ecological responses and are modifying the ecosystem functioning. Also significant is the possible existence of evolutionary process of selection in response to these environmental stressors. Amphibians are especially sensitive to environmental changes because their embryonic, larval and adult stages are exposed and unprotected and because they experience very sensitive biological processes such as metamorphosis, skin breathing or an intense water exchange with the environment. Additionally, amphibians have a strong phylopatria and a very scarce and slow dispersal rate. When amphibians suffer an acute exposure to stressors, the effects can be lethal, but in many occasions, there are clinic sublethal effects such as abnormalities, mutations or cancer, loss of equilibrium or locomotor abilities, impairment of the immune response or the acquisition of other diseases. Chronic exposures to low levels of stressors can produce hormonal disruption, behavioural alterations or growth and metamorphosis impairments.

RESUMEN

Durante las últimas décadas, muchas especies de anfibios han sufrido un grave declive de sus poblaciones. El incremento de la radiación ultravioleta y la contaminación ambiental, solas o en combinación con otras perturbaciones, parecen ser responsables directos de esta crisis de biodiversidad en amplias zonas. Además de su efecto sobre el estado de conservación de los anfibios, estos impactos ambientales alteran las respuestas comportamentales y ecológicas de los individuos y modifican el funcionamiento de los ecosistemas. No menos relevante es la existencia potencial de procesos evolutivos de selección de estrategias de tolerancia o eficiencia ante alteraciones ambientales. Los anfibios son especialmente sensibles a cambios ambientales al tener sus fases embrionaria, larvaria y adulta muy desprotegidas y expuestas, y al desarrollar procesos biológicos sensibles, como la metamorfosis, la respiración cutánea, o un intercambio muy intenso de agua con el ambiente. A estas características hay que unir la gran filopatria de los anfibios y su escasa o lenta capacidad de recolonización. En casos de una fuerte exposición al factor estresante los efectos suelen ser letales, pero en exposiciones menos agresivas se producen efectos subletales clínicos, como el desarrollo de anomalías, la génesis de mutaciones o cáncer, la pérdida de equilibrio o control motor, la pérdida de respuesta inmune, o la adquisición de otras enfermedades. Exposiciones leves pueden provocar efectos subclínicos como disrupción hormonal, alteración de la percepción o la conducta, alteración del desarrollo o perturbación de la metamorfosis.

INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas se ha detectado un aumento muy significativo de la tasa de extinción de vertebrados (WAKE, 1991; WILSON, 1992; EHR-LICH, 1997). Como parte de esta crisis global de biodiversidad, merecen una atención especial los anfibios. Recientemente, muchas especies de anfibios han sufrido un grave declive de sus poblaciones, una reducción drástica de su área de distribución e incluso, en algunos casos, se han extinguido (BARINAGA, 1990; BLAUSTEIN *et al.*, 1994a, 2001; BLAUSTEIN & WAKE, 1990; REASER, 1996; WAKE, 1991). Los anfibios son especialmente sensibles a extinciones locales por su dificultad para la dispersión y recolonización. Esta limitación ecológica se debe a restricciones fisiológicas, la relativamente baja movilidad y la filopatría de este grupo (DUELLMAN & TRUEB, 1994; STEBBINS & COHEN, 1995). A su alta sensibilidad se suma el desconocimiento de las causas que provocan la mortalidad masiva, lo que plantea graves problemas a la hora de diseñar estrategias para su conservación (BLAUSTEIN, 1994; MCKOY, 1994; PECHMAN & WILBUR, 1994; TRAVIS, 1994).

Fluctuaciones naturales severas de poblaciones naturales podrían estar siendo consideradas como declives causados por impactos humanos (PECHMAN *et al.*, 1991; GREEN, 1997). Aunque esta confusión se puede estar produciendo en algunos casos, en los últimos años, estudios que muestran evidencias de extinciones y declives poblacionales reales de especies de anfibios se suceden continuamente (WAKE, 1998; LIPS, 1999; DALTON, 2000). Un análisis reciente y exhaustivo sobre estudios demográficos realizados en 936 poblaciones de anfibios a nivel mundial no ofrece duda sobre el rápido declive que han padecido estos vertebrados, en las 5 últimas décadas (HOULAHAN *et al.*, 2000).

Se han propuesto varias causas que actuando por separado o conjuntamente podrían contribuir al declive de los anfibios (CORN, 2001). Merecen destacarse los cambios climáticos (POUNDS & CRUMP, 1994; KIESECKER *et al.*, 2001), la fragmentación o la destrucción de sus hábitats (KOLOZSVARY & SWIHART, 1999; KNUTSON *et al.*, 1999), la introducción de especies exóticas (KIESECKER & BLAUSTEIN, 1997; HAYES & JENNINGS, 1986; KNAPP & MATTHEWS, 2000), la lluvia ácida (CORN & VERTUCCI, 1992; ROWE & FRED, 2001) o algunas infecciones (BLAUSTEIN *et al.*, 1994b; DASZAK *et al.*, 2000; CAREY, 2000; BOSCH *et al.*, 2001; CRAWSHAW, 2001). Además, parece indudable el impacto de la contaminación

ambiental (BERGER, 1989; HALL & HENRY, 1992; SPARLING *et al.*, 2001) y el aumento de la radiación UV (BLAUSTEIN *et al.*, 1994a, 1998, 2001; LIZANA & PEDRAZA, 1998), en el declive de las poblaciones de anfibios.

INFLUENCIA DE LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA EN ANFIBIOS

La desaparición de anfibios en hábitats aparentemente inalterados podría estar relacionada con el aumento de la RUV que incide sobre la superficie terrestre. La causa más conocida de este aumento de la RUV es la destrucción de la capa de ozono estratosférica. Esta alteración atmosférica, parcialmente causada por actividades humanas no se reduce a la Antártida. En los últimos años se han detectado episodios de disminución de la capa de ozono tanto en el Hemisferio Norte como en el Sur (SECKMEYER & MCKENZIE, 1992; ORCE & HELBLING, 1997). Aunque esta disminución es transitoria, los organismos vivos están sufriendo sobreexposición a la RUV-B (ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA, 1994; NILSSON, 1996). En los últimos años el interés de la comunidad científica en esta área de investigación se ha incrementado considerablemente (BIGGS Y JOYNER, 1994; HÄDER, 1997; ROZEMA *et al.*, 1997; WEBB, 1998).

Adicionalmente, se ha comprobado que otros impactos ambientales pueden aumentar significativamente la penetración de la RUV en ecosistemas acuáticos. Por ejemplo, la acidificación del agua o el calentamiento global causan el descenso de la DOC y la alteración de sus propiedades ópticas, aumentando la penetración de la RUV hasta el 900% (DONAHUE *et al.*, 1998; SCHINDLER, 1997). La eliminación de la vegetación acuática o riparia también favorece que la RUV penetre en el agua hasta un 500% (XENOPOULOS & SCHINDLER, 2001).

El daño más significativo que provoca la RUV en organismos vivos es la alteración del ADN. La RUV-B al incidir sobre las células, provoca la formación de fotoproductos citogenéticos y mutagénicos, como los CPDs (Cyclobutane Pyrimidine Dimers) que impiden la expresión genética por bloqueo de la transcripción (ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA, 1994). Además, en plantas se ha detectado disminución en la fijación de carbono y destrucción de pigmentos fotosintéticos, mientras que en animales y humanos se han descrito daños dérmicos (pérdida de elasticidad, envejecimiento, quemaduras, cáncer de piel, engrosamiento de capas superficiales de la piel y aumento de pigmentación, que hace la piel más vulnerable a melanomas), dismi-

nución de la respuesta inmune (se debilita la capacidad de la piel de responder a infecciones locales), alteraciones oculares (desprendimiento de retina, fotoqueratitis, cataratas y pérdida progresiva de visión), alteración o interrupción del desarrollo embrionario, fotoalergias, etc. (NILSSON, 1996; ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA, 1994).

Los adultos o las larvas de muchos anfibios son sensibles a la RUV, pero pueden eludir activamente la radiación desarrollando una actividad nocturna o refugiándose en zonas profundas, vegetación, piedras, troncos, etc. La RUV podría explicar la ausencia de estas especies en zonas que carecen de estos refugios. Sin embargo, los huevos de los anfibios carecen de movilidad y dependen de sus progenitores para protegerse de la RUV-B. En la mayoría de especies de anfibios, los huevos presentan envueltas transparentes y al ser depositados libremente en el agua están expuestos a la radiación solar. Además, algunas especies seleccionan para depositar sus huevos zonas someras y expuestas de charcas o lagunas, con mayor temperatura del agua y, por tanto, más rápido desarrollo embrionario. Sin embargo, en estas zonas los embriones están expuestos a una mayor dosis de RUV-B. Hay claros indicios de la existencia de una diferente capacidad entre huevos de diferentes especies de anfibios para reparar los daños causados en el ADN por los rayos UV y una correlación entre esta capacidad y la mortalidad de embriones causada por la citada radiación en lugares naturales de oviposición (BLAUSTEIN *et al.* 1994a; HAYS *et al.*, 1996). Probablemente, la RUV-B esté, además, comprometiendo los sistemas de defensa de los anfibios haciéndolos más sensibles a otras causas de declive (BLAUSTEIN Y WAKE, 1990).

Efecto de RUV natural en embriones de anfibios.

Experimentos de campo en los que se han expuesto huevos fertilizados de varias especies de anfibios a diferentes niveles de RUV-B ambiental en sus lugares naturales de puesta muestran que la RUV-B es capaz de causar la muerte o serias malformaciones en algunas especies (BLAUSTEIN *et al.*, 1998; BROOMHALL *et al.*, 2001; ANZALONE *et al.*, 1998; OVASKA *et al.*, 1997). En España se ha estudiado la sensibilidad de embriones de anfibios a niveles naturales de RUV-B, durante varios años y en diferentes localidades de montaña (a 1900 m de altitud en la Sierra de Gredos, a 1.700 m de altitud en el Parque Natural del Lago de Sanabria y a 900 m de altitud en la Sierra de Francia). Se ha detectado un efecto significativo de la RUV-B en la mortalidad de huevos en *Bufo bufo*, *Pelobates cultripes* y

Triturus marmoratus, mientras que *B. calamita*, *Hyla arborea* y *Rana perezi* fueron más resistentes y en algunos casos, se encontraron resultados aparentemente contradictorios.

En determinados casos, los resultados de los experimentos de campo variaron para una misma especie. Esta aparente contradicción podría estar estrechamente relacionada con la intensidad o la dosis de RUV recibida por los huevos en cada caso. La cantidad de RUV ambiental que incide sobre la superficie de la Tierra es muy variable en función de factores geográficos como la latitud o la altitud; temporales como la época del año; y climáticos, como el número de horas de sol durante el experimento (nubosidad) o la temperatura del agua (duración de la incubación). Factores bióticos como la presencia y abundancia de patógenos en el agua (quitridios o saprolegnias) también podrían explicar una variabilidad en los efectos negativos detectados en diferentes experimentos al mostrar sinergismo con la RUV.

Considerando también otros estudios realizados con similar metodología en campo, en otros lugares del mundo, se puede concluir que existen bastantes especies sensibles a la RUV-B en la etapa embrionaria y que esta sensibilidad muestra una variabilidad interespecífica. Todas las especies de tritones y las salamandras que se han estudiado presentan huevos muy sensibles a la RUV-B. En experimentos realizados en Europa, se ha comprobado una mortalidad del 100 % en pocos días cuando los embriones de tritones alpino y jaspeado son colocados en aguas poco profundas y transparentes a la RUV-B (NAGL & HOFER, 1997; MARCO *et al.*, 2001).

Se ha comprobado que la RUV-B ambiental produce deformidades en embriones de anfibios (BLAUSTEIN *et al.*, 1997; MARCO *et al.*, 2001). Embriones que no mueren tras la exposición a la RUV, pueden sufrir serias anomalías que pueden provocar la muerte futura o un desarrollo larvario anormal que limitará el éxito futuro de los individuos afectados. En nuestros estudios, se han observado y analizado las características y la frecuencia de aparición de anomalías en embriones de diferentes especies de anfibios ibéricos expuestos a RUV-B tanto en el campo como en el laboratorio. Se ha usado la terminología propuesta por FETAX (Frog Embryo Teratogenesis Assay – *Xenopus*; BANTLE *et al.*, 1991). En etapas iniciales del desarrollo embrionario se han observado con frecuencia alteraciones del contorno del huevo, necrosis y escapes de yema. En embriones más desarrollados se han observado arqueamientos del

cuerpo y la cola, acortamientos de la cola, necrosis, edemas en diferentes zonas corporales, eritemas generalizados con rotura epidérmica y pérdida de tejidos y fotoqueratitis en los ojos (MARCO *et al.*, 2001).

Sinergismo de RUV con otros factores.

La desaparición masiva de anfibios podría deberse a la coincidencia de diversas perturbaciones ambientales. Recientemente, se ha detectado sinergismo entre la RUV-B y la infección por *Saprolegnia ferax* (KIESECKER & BLAUSTEIN, 1995). Este hongo infecta a algunas especies de peces, con especial incidencia en piscifactorías. Además, provoca mortalidad masiva de huevos de diferentes anfibios como *Bufo boreas*, *B. calamita*, *Rana temporaria*, *R. pipiens* y *Ambystoma maculatum*. En nuestros experimentos no se ha comprobado el sinergismo entre RUV-B e infección por *S. ferax*, pero sí se han observado múltiples puestas masivamente infectadas por este parásito. La RUV-B debilita determinadas respuestas del sistema inmune (ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA, 1994) y podría estar facilitando la infección de los embriones de anfibios por *S. ferax*, *S. parasitica* u otros microorganismos patógenos. Recientemente se ha detectado una extraordinaria sensibilidad de algunas especies de anfibios a la infección por hongos quitridiales (BOSCH *et al.*, 2001; CAREY, 2000) hasta el punto de considerarla como un factor significativo que estaría contribuyendo al declive de anfibios. La RUV, especialmente en zonas de montaña, podría estar favoreciendo este tipo de infección.

También se ha detectado sinergismo entre la exposición a la RUV-B y un bajo valor del pH del agua donde se encuentran los huevos. Este sinergismo se ha demostrado en *Rana pipiens* (LONG *et al.*, 1995). HATCH & BURTON (1998) han encontrado sinergismo entre RUV-B y contaminación del agua por fluoranteno (PAH) estudiando huevos y larvas de *Xenopus laevis* y *Ambystoma maculatum*. La RUV-B podría fotoactivar otros contaminantes químicos, haciéndolos más tóxicos para la vida acuática. HATCH & BLAUSTEIN (2000) han detectado un sinergismo negativo entre la exposición a fertilizantes químicos, pH ácido y RUV-B.

Estrategias fotoprotectoras

Un mecanismo bioquímico fotoprotector muy extendido en vertebrados y de gran eficiencia es la fotoreactivación enzimática. La enzima fotoliasa es capaz de romper los CPDs, restituyendo la secuan-

cia original del ADN. Constituye el mecanismo más importante de reparación del ADN dañado por la RUV-B (BLAUSTEIN *et al.*, 1994a). Se observa que las especies con alta actividad fotoliasica no muestran sensibilidad a la RUV-B natural en nuestros experimentos. Por el contrario, especies con niveles reducidos de actividad de fotoliasas si sufren los efectos negativos de la RUV-B en el campo.

La síntesis de pigmentos que absorbe la RUV es una estrategia fotoprotectora muy efectiva y generalizada. Por ejemplo, las plantas sintetizan sustancias flavonoides (HÄDER, 1997) y los huevos de algunas especies se protegen aumentando la pigmentación con melanina. Los huevos de especies de anfibios muy expuestos a la RUV-B suelen presentar coloraciones oscuras (STEBBINS & COHEN, 1995).

En *Ambystoma gracile*, salamandra con huevos muy sensibles a la RUV (BLAUSTEIN *et al.*, 1998) se ha observado el crecimiento simbiótico de algas verdes (*Chlamydomonas* sp.) en la matriz gelatinosa transparente que envuelve los huevos. El crecimiento de algas es tan intenso que al final del periodo de desarrollo embrionario de la salamandra, la puesta presenta un color verde intenso generalizado que no permite ver los embriones y esta protegiendo los sensibles embriones de la RUV-B. Los huevos de *A. gracile* colonizados por algas son capaces de sobrevivir durante períodos prolongados de tiempo incluso al aire, donde la exposición a la RUV es mayor que dentro del agua (MARCO & BLAUSTEIN, 1998).

Hay estrategias reproductivas que eluden la exposición de los huevos a la RUV. Hay casos de ovoviviparismo o tolerancia de los huevos a ambientes terrestres húmedos con ovoposición en galerías, grietas o cuevas. En estos casos, los huevos nunca están expuestos a la luz solar (*Salamandra* sp., *Alytes* sp., *Plethodontidae*,...). En otras especies las hembras han desarrollado conductas de oviposición que protegen sus huevos de la RUV-B. Este es el caso de varias especies de tritones que ponen sus huevos en zonas someras pero envueltos en hojas de plantas acuáticas que protegen totalmente los embriones del efecto negativo de la RUV-B (MARCO & BLAUSTEIN, 2000). De forma similar, las hembras de algunos ambistomátidos con frecuencia ponen los huevos en el agua pero sujetos a la parte inferior de piedras o troncos.

Además, el agua y sustancias orgánicas disueltas (DOC) pueden actuar como filtro de la RUV-B (MORRIS *et al.*, 1995). Por tanto, depositando los huevos a mayor profundidad o en agua turbia, se puede eludir la exposición a la RUV-B. KIESECKER

et al. (2001) observan la influencia de la profundidad de los huevos en el agua en la sensibilidad a la RUV y a infecciones. Estos autores relacionan las sequías o períodos de poca precipitación con el aumento del impacto negativo de la RUV. Experimentos realizados con *B. calamita* muestran un claro efecto de la profundidad en los daños causados por la RUV-B. La mortalidad por RUV-B detectada en huevos depositados a mayor profundidad es menor que la observada en huevos colocados más cerca de la superficie (LIZANA Y MARCO, datos propios). El descenso del nivel del agua durante el desarrollo embrionario, por evaporación, por drenaje o por extracción para el consumo podría ser muy perjudiciales para el desarrollo adecuado de los huevos de estas especies.

EFFECTO DE LA CONTAMINACIÓN SOBRE ANFIBIOS

En el campo se liberan muchas sustancias químicas relacionadas con actividades agrícolas, industriales o urbanas, que acaban incorporándose a los ciclos biológicos. Algunas de estas sustancias pueden ser liberadas en concentraciones suficientemente altas como para provocar daños para la fauna (O. E. C. D., 1986; U. S. E. P. A., 1986). Muchos de los hábitats acuáticos, cruciales para la reproducción y la supervivencia de los anfibios, son receptores de diversos tipos de contaminación. Como consecuencia de la alteración de la calidad ambiental de estos ecosistemas, se ha encontrado en algunas zonas una relación negativa entre la actividad agrícola convencional y la diversidad y salud de anfibios (BERGER, 1989; BISHOP *et al.*, 1999).

El uso de insecticidas, fungicidas, herbicidas y fertilizantes tanto en cultivos herbáceos como leñosos, así como la acidificación o salinización del suelo como consecuencias de esas actividades, supone un riesgo importante para la supervivencia de anfibios (BERRILL *et al.*, 1994; DEVILLERS & EXBRAYAT, 1992; FRISBIE & WYMAN, 1991; COWMAN & MAZANTI, 2001). El impacto puede ser directo sobre individuos adultos en vida terrestre, tras la aplicación de las sustancias químicas en el campo, en forma sólida, líquida o gaseosa. Alteraciones como la lluvia ácida o la contaminación atmosférica provocada por actividades industriales y urbanas o la combustión de derivados del petróleo también pueden tener un impacto sobre anfibios en fase terrestre (PIERCE, 1985; ROWE & FRED A, 2001).

Por otro lado, la contaminación de cursos de agua o zonas húmedas afecta a fases acuáticas de

anfibios adultos, así como a etapas embrionarias y larvarias. En muchos casos, zonas agrícolas y ganaderas drenan sustancias tóxicas en zonas húmedas. Tras la aplicación de sustancias químicas en los cultivos, estas pueden ser arrastradas por escorrentía hacia cuerpos de agua próximos contaminándolos. La incorporación de contaminantes al agua se puede dar también cuando la aplicación del contaminante se hace en forma de aerosol. El impacto en zonas húmedas suele ser mayor cuando se usan métodos aéreos de aplicación o se hace en condiciones de fuerte viento. En ambos casos se favorece la dispersión de las sustancias químicas a zonas adyacentes a los cultivos. Adicionalmente, áreas industriales y cascos urbanos, vierten aguas residuales cargadas de contaminantes en zonas húmedas o cursos de agua. En el mejor de los casos, estos vertidos han sido previamente tratados, pero casi nunca se eliminan en su totalidad determinados contaminantes.

Se ha comprobado la sensibilidad de anfibios a diferentes tipos de sustancias químicas, como pesticidas (HALL & HENRY, 1992; BERRILL *et al.*, 1994; COWMAN & MAZANTI, 2001), herbicidas (ANDERSON & PRAHLAD, 1976; COOKE, 1977; MANN & BIDWELL, 1999), fertilizantes químicos (HECNAR, 1995; OLDHAM *et al.*, 1997; MARCO *et al.*, 1999, 2001), organoclorados (DEVILLERS & EXBRAYAT, 1992; SPARLING *et al.*, 2001), metales pesados (FRED A, 1991; LEFCORT *et al.*, 1998; HORNE & DUNSON, 1995; LINDER & GRILLITSCH, 2001), disruptores hormonales (PICKFORD & MORRIS, 1999; HAYES, 2001) o derivados del petróleo (LEFCORT *et al.*, 1997; DE ZWART & SLOOFF, 1987).

Existen numerosos estudios que analizan los efectos y la relación dosis-efecto de diversas sustancias químicas en diferentes especies de anfibios (rev: DEVILLERS & EXBRAYAT, 1992; ENVIRONMENT CANADA, 2000). Cuando los anfibios son expuestos a contaminantes pueden morir o sufrir diferentes efectos subletales como alteraciones conductuales o de desarrollo, alteraciones de la pigmentación e incluso deformidades (BANTLE *et al.*, 1991; DEVILLERS & EXBRAYAT, 1992; OUELLET, 2001). En muchos casos, se produce la acumulación de sustancias químicas en diversos órganos o tejidos y se producen alteraciones funcionales o fisiológicas que pueden provocar daños en los individuos (CANTON & SLOOFF, 1982; HALL, 1990; HALL & KOLBE, 1980; NEBEKER *et al.*, 1995). Muchos anfibios son componentes cuantitativamente importantes en ecosistemas

de agua dulce, y por tanto, la presencia de sustancias tóxicas en anfibios puede provocar a medio plazo la acumulación y bioconcentración de los contaminantes en sus depredadores (FLEMING *et al.*, 1982).

La sensibilidad a contaminantes suele variar entre especies. Hay que tener prudencia a la hora de extrapolar resultados de sensibilidad de una especie concreta al género o grupo filogenético al que pertenece, pues el comportamiento de especies similares de anfibios u otros grupos animales ante determinados contaminantes puede ser muy diferente (SCHUYTEMA & NEBEKER, 1999; MARCO *et al.*, 1999). En muchos casos, se seleccionan como especies diana para ensayos toxicológicos, animales muy abundantes o con distribuciones muy amplias. No hay que olvidar que una de las posibles razones de su éxito podría ser una elevada tolerancia a la contaminación. La realización de estudios ecotoxicológicos con especies amenazadas debe controlarse y reducirse al máximo, pero en muchos casos, puede ser la única vía para evaluar y corregir las posibles causas del declive de esa especie. Hay que asumir la gran variabilidad que hay entre especies y, por lo tanto, la dificultad de establecer umbrales críticos generales de tolerancia para determinadas sustancias.

En algunos estudios se observan diferencias substanciales durante la ontogenia de los anfibios en la sensibilidad a contaminantes. Las etapas embrionaria y larvaria de la mayoría de los anfibios viven exclusivamente en el medio acuático, por lo que no pueden eludir el contacto directo con los contaminantes presentes en el agua, y son susceptibles de ingerir o absorber por la piel muchos productos tóxicos. Además, la etapa larvaria suele ser mucho más sensible que los embriones a la contaminación del agua (BERRILL *et al.*, 1994; MARCO, en prensa). La matriz gelatinosa que envuelve los huevos de la mayoría de los anfibios, además de proteger a los embriones frente a diferentes riesgos naturales (WALDMAN & RYAN, 1983; WARD & SEXTON, 1981; MARCO & BLAUSTEIN, 1998), podría estar evitando la entrada de contaminantes dentro de la membrana perivitelina. El proceso de metamorfosis parece ser sensible a la contaminación del agua (MARCO & BLAUSTEIN, 1999) alterando y prolongando el periodo crítico de transición entre la vida acuática y terrestre, en el que son muy vulnerables a riesgos ambientales.

Estos estudios ponen de manifiesto que muchas actividades agrícolas e industriales están comprometiendo la supervivencia de los anfibios

en amplias zonas humanizadas (COOKE, 1981). Se considera importante establecer criterios de calidad del agua específicos para los anfibios (BOYER & GRUE, 1995).

BIBLIOGRAFÍA

- ANDERSON, R.J. & PRAHLAD, K.V.
1976 The deleterious effects of fungicides and herbicides on *Xenopus laevis* embryos. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 4: 312-323.
- ANZALONE, C.R., L.B. KATS, & M.S. GORDON.
1998 Effects of solar UV-B radiation on embryonic development in three species of lower altitude and lower elevation amphibians. *Conserv. Biol.* 12: 646-653.
- BANTLE, J.A., J.N. DUMONT, R.A. FINCH & G LINDER.
1991 *Atlas of abnormalities. A guide for the performance of FETAX (Frog Embryo Teratogenesis Assay - Xenopus)*. U.S. Army Medical Research and Development Command, Washington, D.C. 68 pp.
- BARINAGA, M.
1990 Where have all the frogies gone? *Science*, 247: 1033-1034.
- BERGER, L.
1989 Disappearance of amphibian larvae in the agricultural landscape. *Ecol. Internat. Bull.*, 17: 65-73.
- BERRILL, M., BERTRAM, S., MCGILLIVRAY, L., KOLOHON, M. & PAULI, B.
1994 Effects of low concentrations of forest-use pesticides on frog embryos and tadpoles. *Environ. Toxicol. Chem.*, 13: 657-664.
- BIGGS, R.H. & M.E.B. JOYNER.
1994 *Stratospheric ozone depletion. UV-B radiation in the biosphere* Springer Verlag
- BISHOP, C.A., MAHONY, N.A., STRUGER, J., NG, P. & PETTIT, K.E.
1999 Anuran development, density and diversity in relation to agricultural activity in the Holland River Watershed, Ontario, Canada 1990-1992). *Environ. Monitor. Assessm.* 57: 21-43.
- BLAUSTEIN, A.R.
1994 Chicken little or Nero's fiddle?: A perspective on amphibian populations declines. *Herpetologica*, 50: 85-97.

- BLAUSTEIN, A.R., J.M. KIESECKER, D.P. CHIVERS & R.G. ANTHONY.
1997 Ambient UV-B radiation causes deformities in amphibian embryos. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 94: 13735-13737.
- BLAUSTEIN, A.R., L.K. BELDEN, A.C. HATCH, L.B. KATS, P.D. HOFFMAN, J.B. HAYS, A. MARCO, D.P. CHIVERS & J.M. KIESECKER.
2001 Ultraviolet radiation and Amphibians. In: Cockell CS and AR Blaustein (eds.), *Ecosystems, Evolution, and Ultraviolet Radiation*. Springer Verlag, New York. pp. 63-79.
- BLAUSTEIN, A., HOFFMAN, P., HOKIT, D., KIESECKER, J., WALLS, S. & J. HAYS.
1994a UV repair and resistance to solar UV-B in amphibian eggs: a link to population declines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 91: 1791-1795.
- BLAUSTEIN, A.R., HOKIT, D.G., O'HARA, R.K. & HOLT, R.A.
1994b Pathogenic fungus contributes to amphibian losses in the Pacific Northwest. *Biol. Conserv.*, 67: 251-254.
- BLAUSTEIN, A.R., J.M. KIESECKER, D.P. CHIVERS, D.G. HOKIT, A. MARCO, L.K. BELDEN, & A. HATCH.
1998 Effects of Ultraviolet radiation on amphibians: field experiments. *Amer. Zool.*, 38: 799-812.
- BLAUSTEIN, A.R. & D.B. WAKE.
1990 Declining amphibian populations: a global phenomenon?. *Trends in Ecology & Evolution*, 5: 203-204.
- BOSCH, J. MARTÍNEZ-SOLANO, I. & GARCÍA-PARÍS, M.
2000 Evidence of a Chytrid fungus infection involved in the near disappearance of the common midwife toad in protected areas of Central Spain. *Biol. Conserv.* 97: 331-337.
- BOYER, R. & GRUE, C.E.
1995 The need for water quality criteria for frogs. *Environ. Health Perspect.*, 103: 352-357.
- BROOMHALL S.D., W. OSBORNE & R. CUNNINGHAM.
2000 Comparative effects of ambient ultraviolet-B (UV-B) radiation on two sympatric species of Australian frogs. *Conserv. Biol.* 14: 420-427.
- CANTON, J.H. & SLOOFF, W.
1982 Toxicity and accumulation studies of cadmium (Cd) with freshwater organisms of different trophic levels. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 6: 113-128.
- CAREY, C.
2000 Infectious disease and worldwide declines of amphibian populations, with comments on emerging diseases in coral reef organisms and in humans. *Environ. Health Perspect.*, 108: 1-8.
- COOKE, A. S.
1977 Effects of field applications of the herbicides diquat and dichlobenil on amphibians. *Environ. Pollut.*, 12: 43-50.
- COOKE, A. S.
1981 Tadpoles as indicators of harmful levels of pollution in the field. *Environ. Pollut. Ser. A. Ecol. Biol.*, 25: 123-133.
- CORN, P.S. & VERTUCCI, F.A.
1992 Descriptive risk assesment of the effects of acidic deposition on Rocky mountains amphibians. *J. Herpetol.*, 26: 361-369.
- CORN, P.S.
2001 Amphibian declines: review of some current hypothesis, pp. 663-696, in: SPARLING, D.W., LINDER, G. & BISHOP, C.A. (eds.), *Ecotoxicology of amphibians and reptiles*. SETAC Press, Pensacola, FL.
- COWMAN, D.F. & MAZANTI, L.E.
2001 Ecotoxicology of new generation pesticides to amphibians, pp. 233-268, in: SPARLING, D.W., LINDER, G. & BISHOP, C.A. (eds.), *Ecotoxicology of amphibians and reptiles*. SETAC Press, Pensacola, FL.
- CRAWSHAW, G.J.
2001 Diseases and pathology of amphibians and reptiles, pp. 199-232, in: SPARLING, D.W., LINDER, G. & BISHOP, C.A. (eds.), *Ecotoxicology of amphibians and reptiles*. SETAC Press, Pensacola, FL.
- DALTON, R.
2000 WWW project aims to address worldwide decline in amphibians. *Nature*, 403: 471-472.
- DASZAK, P., CUNNINGHAM, A.A. & HYATT, A.D.
2000 Emerging infectious diseases of wildlife - threats to biodiversity and human health. *Science*, 287: 443-449.
- DE ZWART, D. & SLOOFF, W.
1987 Toxicity of mixtures of heavy metals and petrochemicals to *Xenopus laevis*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 38: 345-351.

- DEVILLERS, J. & EXBRAYAT, J.M.
1992 *Ecotoxicity of chemicals to amphibians*. Gordan and Breach Science Publishers, Lyon, France. 337 pp.
- DONAHUE, W.F., D.W. SCHINDLER, S.J. PAGE, & M.P. STANTON.
1998 Acid-induced changes in DOC quality in an experimental whole-lake manipulation. *Environ. Sci. Technol.*, 32: 2954-2960.
- DUPELLMAN, W.E. & L. TRUEB.
1994 *Biology of Amphibians*. Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press.
- EHRlich, P.R.
1997 *A world of wounds: Ecologists and the human dilemma*. Ecology Institute, Oldendorf, Luhe, Germany.
- ENVIRONMENT CANADA.
2000 The Herptox Page. The effects of environmental contaminants on reptiles and amphibians. Web page: <http://www.on.ec.gc.ca/herptox/intro.html>. Environment Canada.
- ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA 160.
1994 *Ultraviolet radiation*. World Health Organization, Ginebra. 352 pp.
- FLEMING, W.J., DE CHACIN, H., PATTEE, O.H. & LAMONT, T.G.
1982 Parathion accumulation in cricket frogs and its effect on American kestrels. *J. Toxicol. Environ. Health*, 10: 921-927.
- FREDA, J.
1986 The influence of acidic pond water on amphibians: a review. *Water Air Soil Pollut.*, 30: 439-450.
- FREDA, J.
1991 The effects of aluminum and other metals on amphibians. *Environ. Pollut.*, 71: 305-328.
- FRISBIE, M.P. & WYMAN, R.L.
1991 The effects of soil pH on Sodium Balance in the Red-backed salamander, *Plethodon cinereus*, and three other terrestrial salamanders. *Physiol. Zool.*, 64: 1050-1068.
- GREEN, D. M.
1997 Perspectives on amphibian population declines: defining the problem and searching for answers, pp: 291-308, in: GREEN, D.M. (ed.), *Amphibians in decline: canadian studies of a global problem*. *Herpetological Conservation*, 1.
- HÄDER, D.P.
1997 *The effect of ozone depletion on aquatic ecosystems*. Academic Press, London. 275 pp.
- HALL, R.J.
1990 Accumulation, metabolism and toxicity of parathion in tadpoles. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 44: 629-635.
- HALL, R.J. & HENRY, P.F.P.
1992 Assessing the effects of pesticides on amphibians and reptiles: status and needs. *Herpetol. J.*, 2: 65-71.
- HALL, R.J. & KOLBE, E.
1980 Bioconcentration of organophosphorus pesticides to hazardous levels by amphibians. *J. Toxicol. Environ. Health*, 6: 853-860.
- HATCH, A.C. & BLAUSTEIN, A.R.
2000 Combined effects of UV-B, nitrate, and low pH reduce the survival and activity level of larval Cascades frogs (*Rana cascadae*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 39: 494-499.
- HATCH, A.C. & BURTON, G.A. Jr.
1998 Effects of photoinduced toxicity of fluoranthene on amphibian embryos and larvae. *Environ. Toxicol. & Chem.*, 17: 1777-1785.
- HAYES, M.P. & JENNINGS, M.R.
1986 Decline of ranid frog species in western North America: are bullfrogs (*Rana catesbeiana*) responsible? *J. Herpetol.*, 20: 490-509.
- HAYES, T.B.
2001 Endocrine disruption in amphibians, pp. 573-594, in: SPARLING, D.W., LINDER, G. & BISHOP, C.A. (eds.), *Ecotoxicology of amphibians and reptiles*. SETAC Press, Pensacola, FL.
- HAYS, J.B., A.R. BLAUSTEIN, J.M. KIESECKER, P.D.
HOFFMAN, I. PANDELOVA, D. COYLE & P.D. RICHARDSON.
1996 Developmental responses of amphibians to solar and artificial UVB sources: a comparative study. *Photochem. Photobiol.*, 64: 449-456.
- HECNAR, S.J.
1995 Acute and chronic toxicity of ammonium nitrate fertilizer to amphibians from southern Ontario. *Environ. Toxicol. Chem.*, 14: 2131-2137.

- HORNE, M.T. & DUNSON, W.A.
1995 Effects of low pH, metals, and water hardness on larval amphibians. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 29: 500-505.
- HOULAHAN, J.E., FINDLAY, C.S., SCHMIDT, B.R., MEYER, A.H. & KUZMIN, S.L.
2000 Quantitative evidence for global amphibian population declines. *Nature*, 404: 752-755.
- KIESECKER, J. M. & A.R. BLAUSTEIN.
1995 Synergism between UV-B radiation and a pathogen magnifies amphibian embryo mortality in nature. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 92, 11049-11052.
- KIESECKER, J.M. & BLAUSTEIN, A.R.
1997 Population differences in responses of red-legged frogs (*Rana aurora*) to introduced bullfrogs. *Ecology*, 78: 1752-1760.
- KIESECKER, J.M., BLAUSTEIN, A.R. & BELDEN, L.K.
2001 Complex causes of amphibian population declines. *Nature*, 410: 681-684.
- KNAPP, R.A. & MATTHEWS, K.R.
2000 Non-native fish introductions and the decline of the Mountain Yellow-legged Frog from within protected areas. *Conserv. Biol.*, 14: 428-438.
- KNUTSON, M.G., SAUER, J.R., OLDESN, D.A., MOSSMAN, M.J., HEMESATH, L.M. & LANNOO, M.J.
1999 Effects of landscape composition and wetland fragmentation on frog and toad abundance and species richness in Iowa and Wisconsin, USA. *Conserv. Biol.*, 13: 1437-1446.
- KOLOZSVARY, M.B. & SWIHART, R.K.
1999 Habitat fragmentation and the distribution of amphibians: patch and landscape correlates in farmland. *Can. J. Zool.*, 77: 1288-1299.
- LEFCORT, H., HANCOCK, K.A., MAUR, K.M. & ROSTAL, D.C.
1997 The effects of used motor oil, silt, and the water mold *Saprolegnia parasitica* on the growth and survival of mole salamanders (genus *Ambystoma*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 32: 383-388.
- LEFCORT, H., MEGUIRE, R.A., WILSON, L.H. & ETTINGER, W.F.
1998 Heavy metals alter the survival, growth, metamorphosis, and antipredatory behavior of columbia spotted frog (*Rana luteiventris*) tadpoles. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 35: 447-456.
- LINDER, G. & GRILLITSCH, B.
2001 Ecotoxicology of metals, pp. 325-408, in: SPARLING, D.W., LINDER, G. & BISHOP, C.A. (eds.), *Ecotoxicology of amphibians and reptiles*. SETAC Press, Pensacola, FL.
- LIPS, K.R.
1999 Mass mortality and population declines of anurans at an upland site in Western Panama. *Conserv. Biol.*, 13: 117-125.
- LIZANA, M., & PEDRAZA, E.M.
1998 The effects of UV-B radiation on toad mortality in mountainous areas of Central Spain. *Conserv. Biol.*, 12: 703-707.
- LONG, L.E., L.S. SAYLOR, & M.E. SOULE.
1995 A pH/UV-B synergism in amphibians. *Conserv. Biol.*, 9: 1301-1303.
- MANN, R.M. & BIDWELL, J.R. 1
1999 The Toxicity of Glyphosate and Several Glyphosate Formulations to Four Species of Southwestern Australian Frogs. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 36: 193-199.
- MARCO, A. & BLAUSTEIN, A.R.
1998 Egg gelatinous matrix protects *Ambystoma gracile* embryos from prolonged exposure to air. *Herpetol. J.*, 8: 207-211.
- MARCO, A. & BLAUSTEIN, A.R.
1999 The effects of nitrite on behavior and metamorphosis in Cascades frogs (*Rana cascadae*). *Environ. Toxicol. Chem.*, 18: 946-949.
- MARCO, A., & A.R. BLAUSTEIN.
2000 Symbiosis with green algae affects survival and growth of *Ambystoma gracile* embryos. *J. Herpetol.*, 34: 617-621.
- MARCO, A., CASH, D., BELDEN, L. & BLAUSTEIN, A.R.
2001 Sensitivity to urea fertilization in three amphibian species. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 40: 406-409.
- MARCO, A., M. LIZANA, A. ALVAREZ & A.R. BLAUSTEIN.
2001 Egg-wrapping behaviour protects newt embryos from UV radiation. *Anim. Behav.*, 61: 639-644.
- MARCO, A., QUILCHANO, C. & BLAUSTEIN, A.R.
1999 Sensitivity to nitrate and nitrite in some pond-breeding amphibians from the Pacific Northwest. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18 (12): 2836-2839.

- MCCOY, E.D.
1994 Amphibian decline: a scientific dilemma in more ways than one. *Herpetologica*, 50: 98-103.
- MORRIS, D.P.; N. ZAGARASE, C.E. WILLIAMNSON, E.G. BALSEIRO, B.R. HARGREAVES, B. MODENUTTI, R. MOELLER & C. QUEIMALINOS.
1995 The attenuation of solar UV radiation in lakes and the role of dissolved organic carbon. *Limnol. Oceanogr.*, 40: 1381-1391.
- NAGL, A.M. & R. HOFER.
1997 Effect of ultraviolet radiation on early larval stages of the Alpine newt, *Triturus alpestris*, under natural and laboratory conditions. *Oecologia*, 110: 514-519.
- NEBEKER, A.V., SCHUYTEMA, G.S. & OTT, S.L.
1995 Effects of cadmium on growth and bioaccumulation in the northwestern salamander *Ambystoma gracile*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 29: 492-499.
- NILSSON, A.
1996 *Ultraviolet Reflections. Life under a thinning Ozone layer*. John Wiley & Sons, New York. 152 pp.
- O.E.C.D.
1986 *Water pollution by fertilizers and pesticides*. Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). Paris.
- OLDHAM, R.S., LATHAN, D.M., HILTON-BROWN, D., TOWNS, M., COOKE, A.S. & BURN, A.
1997 The effect of ammonium nitrate fertilizer on frog (*Rana temporaria*) survival. *Agric. Ecosyst. Env.*, 61: 69-74.
- ORCE, V.L. & E.W. HELBLING.
1997 Latitudinal PAR measurements in Argentina: extent of the "ozone hole". *Global and Planetary Change*, 15: 113-121.
- OUELLET, M.
2001 Amphibian deformities: current state of knowledge, pp. 617-646, in: SPARLING, D.W., LINDER, G. & BISHOP, C.A. (eds.), *Ecotoxicology of amphibians and reptiles*. SETAC Press, Pensacola, FL.
- OVASKA, K., T.M. DAVIS, & I.N. FLAMARIQUE.
1997 Hatching success and larval survival of the frogs *Hyla regilla* and *Rana aurora* under ambient and artificially enhanced solar ultraviolet radiation. *Can. J. Zool.*, 75: 1081-1088.
- PECHMANN, J.H.K. & WILBUR, H.M.
1994 Putting declining amphibian populations in perspective: natural fluctuations and human impacts. *Herpetologica*, 50: 65-84.
- PECHMAN, J.H.K., SCOTT, D.E., SEMLITSCH, R.D., CALDWELL, J.P., VITT, L.J. & GIBBONS, J.W.
1991 Declining amphibian populations: the problem of separating human impacts from natural fluctuations. *Science*, 253: 892-895.
- PICKFORD, D.B. & MORRIS, I.D.
1999 Effects of Endocrine-disrupting Contaminants on Amphibian Oogenesis: Methoxychlor Inhibits Progesterone-induced Maturation of *Xenopus laevis* Oocytes in Vitro. *Environ. Health Persp.*, 107: 285-292.
- PIERCE, B.A.
1985 Acid tolerance in amphibians. *BioScience*, 35: 239-243.
- POUNDS, J.A. & CRUMP, M.L.
1994 Amphibian declines and climate disturbances: the case of the golden toad and the Harlequin frog. *Conserv. Biol.*, 8: 75-82.
- REASER, J.K.
1996 The elucidation of amphibian declines: are amphibian populations disappearing? *Amphib. Rept. Conserv.*, 1: 4-9.
- ROWE, C.L. & FREDA, J.
2001 Effects of acidification on amphibians at multiple levels of biological organization, pp. 545-571, in: SPARLING, D.W., LINDER, G. & BISHOP, C.A. (eds.), *Ecotoxicology of amphibians and reptiles*. SETAC Press, Pensacola, FL.
- ROZEMA, J., W.W.C. GIESKES, S.C. VAN DE GEJIN, C. NOLAN & H. DE BOOIS.
1997 *UV-B and Biosphere. Plant Ecology 128*. Kluwer Academic Publishers.
- SCHINDLER D.W.
1997 Widespread effects of climate warming on freshwater ecosystems in North America. *Hydrol. Process*, 11: 1043-1067.
- SCHUYTEMA, G.S. & NEBEKER, A.V.
1999 Comparative toxicity of ammonium and nitrate compounds to Pacific treefrog and African clawed frog tadpoles. *Envtl. Toxicol. Chem.*, 18: 2251-2257.

- SECKMEYER, G. & R.L. MCKENZIE.
1992 Increase ultraviolet radiation in New Zeland (45 oS) relative to Germany (48 oN). *Nature*, 359 .
- SPARLING, D.W., LINDER, G. & BISHOP, C.A.
2001 *Ecotoxicology of amphibians and reptiles*. SETAC Press, Pensacola, FL. 877 pp.
- STEBBINS, R.C. & N.W. COHEN.
1995 *A natural history of amphibians*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- TRAVIS, J.
1994 Calibrating our expectations in studying amphibian populations. *Herpetologica*, 50: 104-108.
- U.S. E.P.A.
1986 *Quality criteria for water*. EPA 440/5-86-001. United States Environmental Protection Agency (US EPA). Washington.
- WAKE, D.B.
1991 Declining amphibian populations. *Science*, 250: 860.
- WAKE, D.B.
1998 Action on amphibians. *Trends Ecol. Evol.*, 13: 379-380.
- WALDMAN, B. & RYAN, M.J.
1983 Thermal advantages of communal egg mass deposition in wood frogs (*Rana sylvatica*). *J. Herpetol.*, 17: 70-72.
- WARD, D. & SEXTON, O.J.
1981 Anti-predator role of salamander egg membranes. *Copeia*, 1981: 724-726.
- WEBB, A.R.
1998 *UVB Instrumentation and applications*. Physical Sciences, Gordon and Breach Publishers. 139 pp.
- WILSON, E.O.
1988 *Biodiversity*. Nat. Acad. Press. Washington, D.C.
- XENOPOULOS, M.A. & D.W. SCHINDLER.
2001 Physical factors determining ultraviolet radiation flux into ecosystems. In: Cockell C.S. & A.R. Blaustein (eds.) *Ecosystems, Evolution and Ultraviolet Radiation*. Springer Verlag, New York. pp. 36-62.

Foto: Xabier Rubio

