



**INSTITUTO LATINOAMERICANO DE
CIENCIAS DE LA VIDA Y LA
NATURALEZA**

**PROGRAMA DE POST-GRADO
EN BIODIVERSIDAD NEOTROPICAL**

**EVALUACIÓN DEL USO DE LA ASIMETRÍA FLUCTUANTE EN ANFIBIOS
COMO BIOINDICADORES DE CAMBIOS AMBIENTALES**

NOEMÍ PAOLA MIRANDA MELO

Foz do Iguaçu - PR
2023



**INSTITUTO LATINOAMERICANO DE
CIENCIAS DE LA VIDA Y LA
NATURALEZA**

**PROGRAMA DE POST-GRADO
EN BIODIVERSIDAD NEOTROPICAL**

**EVALUACIÓN DEL USO DE LA ASIMETRÍA FLUCTUANTE EN ANFIBIOS
COMO BIOINDICADORES DE CAMBIOS AMBIENTALES**

NOEMÍ PAOLA MIRANDA MELO

Tesis de maestría presentada al Programa de Posgrado en Biodiversidad Neotropical, del Instituto Latinoamericano de Ciencias de la Vida y la Naturaleza, de la Universidad Federal de la Integración Latinoamericana, como requisito parcial para la obtención del título de Magíster en Ciencias Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Michel Varajão
Garey

Coorientador: Dra. Núbia Carla Santos
Marques

Foz do Iguaçu -PR
2023

NOEMÍ PAOLA MIRANDA MELO

**EVALUACIÓN DEL USO DE LA ASIMETRÍA FLUCTUANTE EN ANFIBIOS
COMO BIOINDICADORES DE CAMBIOS AMBIENTALES**

Tesis de maestría presentada al Programa de Posgrado en Biodiversidad Neotropical, del Instituto Latinoamericano de Ciencias de la Vida y la Naturaleza, de la Universidad Federal de la Integración Latinoamericana, como requisito parcial para la obtención del título de Magíster en Ciencias Biológicas.

JUNTA EXAMINADORA

Dr. (Michel Varajão Garey)
Orientador
UNILA

Dr. (Renan Nunes Costa)
(UEMG)

Dr. (Wagner Antonio Chiba de Castro)
(UNILA)

Foz do Iguaçu, 27 de Febrero del 2023.

Catálogo elaborado pelo Setor de Tratamento da Informação
Catálogo de Publicação na Fonte. UNILA - BIBLIOTECA LATINO-AMERICANA - PTI

M528m

Melo, Noemi Paola Miranda.

Evaluación del uso de la asimetría fluctuante en anfibios como bioindicadores de cambios ambientales / Noemi Paola Miranda Melo. - Foz do Iguaçu, 2023.

68 fls.: il.

Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza Nombre del programa: Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Neotropical (PPG-BN).

Orientador: Michel Varajão Garey.

Coorientador: Núbia Carla Santos Marques.

1. Mudanças ambientais globais. 2. Ciências ambientais. 3. Anuros. I. Garey, Michel Varajão. II. Marques, Núbia Carla Santos. III. Título.

Dedico este trabajo a mi familia por ser siempre mis principales motivadores y consejeros, gracias por darme su paciencia y cariño en cada etapa de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradezco a mi orientador por haberme sugerido el tema de esta tesis, por su paciencia, su apoyo y sus contribuciones, con las cuales esta investigación se pudo concluir.

A mi coorientadora por enriquecer con sus conocimientos y sugerencias el desarrollo de esta tesis.

También agradezco a los profesores de la junta examinadora por sus aportes y consejos para poder mejorar esta investigación.

Agradezco a la Universidad y al programa de la maestría por darme la oportunidad de poder estudiar esta maestría, con profesores que me brindaron a través de sus conocimientos una mejor retroalimentación y entendimiento en cada una de las asignaturas que he cursado. Esta maestría también me permitió conocer a grandiosas personas, con quienes compartí gratos momentos en cada clase.

Y finalmente agradezco hoy y siempre a Dios por haberme otorgado una familia maravillosa, gracias a mi familia por apoyarme en cada decisión y objetivo que me propongo, por motivarme cada día a ser una mejor persona y por siempre procurar mi bienestar.

MIRANDA, NOEMI PAOLA. *Evaluation of the use of fluctuating asymmetry in amphibians as bioindicators of environmental changes*. 2023. 68. Master's dissertation of the Postgraduate Program in Neotropical Biodiversity - Federal University of Latin American Integration, Foz do Iguaçu, 2023.

RESUMEN

La estabilidad del desarrollo de un organismo se refleja en la capacidad que posee de producir una forma "ideal" bajo un conjunto particular de condiciones ambientales. Las estructuras bilaterales en organismos con simetría bilateral ofrecen una simetría precisa sobre la cual se pueden comparar desviaciones. La herramienta más utilizada para estimar la estabilidad del desarrollo es la asimetría fluctuante, que considera las pequeñas desviaciones aleatorias que ocurren entre los lados derecho e izquierdo de rasgos bilaterales. De los animales bioindicadores, los anuros representan un buen modelo de estudio para hacer uso de esta herramienta, debido a que son un grupo taxonómico particularmente sensible a perturbaciones ambientales. Por esta razón, se realizó una búsqueda de investigaciones que evaluarán las alteraciones antropogénicas sobre la asimetría fluctuante de los anfibios como herramienta de bioindicación. Se encontraron 47 artículos, desde 1962 hasta junio del 2022. La mayoría de los trabajos encontrados, se realizaron en Europa, con énfasis en Bulgaria. Los estudios se realizaron en áreas del bioma Bosques templados latifoliados y mixtos, en la ecorregión Bosques Mixtos de los Balcanes. La mayoría de los artículos realizaron: estudios en campo, evaluando el efecto de alteraciones químicas, principalmente agroquímicos, sobre anfibios anuros que viven en ambientes lénticos. La familia más estudiada fue Ranidae y la especie que más destacó fue *Pelophylax ridibundus*, en su mayoría con individuos adultos. Y en cuanto a los rasgos evaluados, se analizó más rasgos de tipo métrico, rasgos elegidos por su factibilidad y al cual se le puede corregir el error de medición, al aumentar las repeticiones. Así mismo, identificamos que en el 83% de los artículos verificó un efecto positivo de las alteraciones antropogénicas sobre la asimetría fluctuante de los anuros. Aun así, se ha visto que existen vacíos de conocimientos, como la falta de estudios en otros continentes, bajo porcentaje de familias y especies, igualmente falta más análisis en áreas con alteraciones antropogénicas de tipo física y hacer uso la morfometría geométrica, el cual es un método más preciso para analizar asimetría fluctuante en estructuras tridimensionales según investigaciones ya realizadas con otras animales.

Palabras clave: Revisión cuantitativa. Inestabilidad del desarrollo. Anuros. Alteración antropogénica. Simetría bilateral.

MIRANDA, NOEMI PAOLA. *Evaluation of the use of fluctuating asymmetry in amphibians as bioindicators of environmental changes*. 2023. 68. Master's dissertation of the Neotropical Biodiversity Graduate Program - Federal University of Latin American Integration, Foz do Iguaçu, 2023.

ABSTRACT

*The stability in the organism's development is reflected in its ability to produce an "ideal" form under a specific set of environmental conditions. In organisms with bilateral symmetry, bilateral structures are important for assessing and comparing deviations that may occur in symmetry. The most commonly used tool to estimate developmental stability is fluctuating asymmetry, which considers the slight random deviations between the right and left sides of bilateral traits. Among bioindicator animals, anurans represent a good study model for employing this tool, as they are a taxonomic group susceptible to environmental disturbances. Therefore, a search was conducted for research articles that evaluated the impacts of anthropogenic alterations on the fluctuating asymmetry in amphibians as a biomonitoring tool. A total of 47 articles were found from 1962 to June 2022. Most of the studies were conducted in Europe, with Bulgaria as a notable location. The studies were carried out in areas of the Temperate Broadleaf and Mixed Forests biome within the Balkan Mixed Forests ecoregion. Most of the articles were field studies assessing the effect of chemical alterations, mainly agrochemicals, on anurans living in lentic environments. The most studied family was Ranidae, with the species *Pelophylax ridibundus* being the most frequently studied, predominantly on adult individuals. In terms of the evaluated traits, most studies analyzed metric traits, as these characteristics are feasible to measure, and measurement error can be corrected by increasing the sample size. Likewise, it was identified that 83% of the articles reported a positive effect of anthropogenic alterations on the fluctuating asymmetry in anurans. However, knowledge gaps were identified, such as the lack of studies in other continents than Europe, a low percentage of families and species targeted in the studies, as well as the need for more analyses in areas with anthropogenic alterations of physical nature and the use of geometric morphometrics, which is a more accurate method to analyze fluctuating asymmetry in three-dimensional structures, based on previous research conducted with other animals.*

Key words: *Scientometric review. Developmental instability. Anurans. Anthropogenic disturbance. Bilateral symmetry.*

LISTA DE ILUSTRACIONES

- Figura 1** – Diagrama de búsqueda y selección de artículos desde el periodo de 1962 hasta 2022 (junio), para el proceso de la revisión bibliométrica.....**19**
- Figura 2** – Número de artículos publicados que evalúan el efecto de los factores de estrés sobre la asimetría fluctuante en anfibios publicados entre el 2001 y el 2022 (junio).....**20**
- Figura 3** – Distribución geográfica de los estudios que asocian el impacto de los estresores en la asimetría fluctuante de los anfibios por país. Los datos se presentan por porcentaje de estudios con relación al total de 47 artículos publicados entre 1962 y junio de 2022.....**21**
- Figura 4** – Distribución de los artículos sobre los efectos de los agentes estresores en la asimetría fluctuante en anfibios separados por ecorregiones y biomas según Olson et al. (2001). Graficando solo 10 ecorregiones y biomas con más artículos encontrados.....**22**
- Figura 5** – Porcentaje de las familias de anfibios utilizados en los artículos sobre asimetría fluctuante de un total de 47 publicaciones evaluadas en este estudio, entre los años 1962-2022 (junio).....**23**
- Figura 6** – Porcentaje del número de artículos que evaluaron los factores de estrés agrupados según el tipo de alteración antrópica en la asimetría fluctuante en anfibios entre los años de 1962 hasta 2022 (junio).....**25**
- Figura 7** – Porcentaje de los rasgos morfológicos medidos en los anfibios dividido según los estadios de vida y cuanto representan estos rasgos en relación al total de artículos analizados.....**26**

LISTA DE TABLAS

Tabla S1 – Estudios sobre el efecto del estrés ambiental en la asimetría fluctuante incluidos en la revisión: especie de anfibio, estresor, tipo de alteración, efecto de FA, tipo de rasgo medido, número de rasgos, tipo de estudio, total de individuos y referencia.....	57
Tabla S2 – Relación entre variables categóricas y la presencia de asimetría fluctuante analizada con la prueba de Chi-cuadrado.....	62

SUMARIO

1 INTRODUCCIÓN	11
2. OBJETIVOS.....	15
2.1 General.....	15
2.2 Específicos	15
3 MATERIAL Y MÉTODOS.....	16
3.1 Etapa de recuperación	16
3.2 Etapa de migración	17
3.3 Etapa de análisis	18
4 RESULTADOS	20
4.1 Distribución geográfica y ambientes investigados	20
4.2 Características de los individuos de estudio.....	22
4.3 Agente estresante y tipo de alteración antropogénica	25
4.4 Tipo de rasgos y estadio de vida	25
4.5 Índices de asimetría fluctuante y otras asimetrías.....	27
4.6 Patrones de ocurrencia de la asimetría fluctuante en anfibios	27
5 DISCUSIÓN	29
6 CONCLUSIONES	38
7 REFERENCIAS.....	39
8 APÉNDICES.....	57

1 INTRODUCCIÓN

La disminución de la biodiversidad está ocurriendo en todo el mundo a un ritmo muy preocupante (Pimm et al., 1995; Ceballos et al., 2015; Cordier et al., 2021). Entre los animales, la clase de vertebrados especialmente vulnerable es Amphibia. De acuerdo con la Evaluación Global de Anfibios en el 2004, cerca de 32,5 % de las especies estaban en riesgo de extinción (Stuart et al., 2004; Wake and Vredenburg, 2008). Sin embargo, desde entonces esa estimación ha aumentado, siendo que actualmente 41 % de las especies están en peligro de extinción. (IUCN, 2022). Desde el reconocimiento inicial de este problema global en 1989 (Wake, 1991), los investigadores han tratado de explicar por qué las poblaciones están disminuyendo. Actualmente, son reconocidas seis amenazas principales a los anfibios: pérdida y alteración del hábitat, contaminación química, cambios climáticos, enfermedades, especies invasoras y explotación comercial (Harfoot et al. 2021). Estos factores están afectando diferentes grupos taxonómicos, pero en mayor grado a los anfibios, debido a que poseen algunas características que los hace más sensibles (Samojeden et al., 2022). Entre estas características se encuentra, el estrecho contacto con el agua cuando son renacuajos y con la tierra cuando son adultos, de modo que experimentan factores estresantes tanto acuáticos como terrestres (Blaustein and Kiesecker, 2002; Pinelli et al., 2019). También, el hecho de poseer un tegumento húmedo y permeable, y huevos sin cáscara, los hace particularmente frágiles a los cambios en las condiciones hídricas, susceptibles a ciertas enfermedades y a los contaminantes (Hopkins, 2007; Pinelli et al., 2019). Debido a las características de los anfibios y en un escenario con alto grado de amenaza, los anfibios pueden ser considerados como bioindicadores de la calidad ambiental y consecuentemente de la salud de los ecosistemas terrestres y acuáticos (Saber et al., 2017; Khattab et al., 2021).

Las acciones humanas actúan como estresores y tienen un impacto directo sobre los anfibios, tanto en estado larvario como adulto, siendo los principales impactos: aumento de las desviaciones en el desarrollo, mayor frecuencia de anomalías morfológicas, disminución de la defensa de su sistema inmunitario, alteraciones del comportamiento y aumento de la tasa de mortalidad (Egea-Serrano et al., 2012). Por consiguiente, los anfibios con inestabilidad de

desarrollo presentando asimetrías en estructuras locomotoras y sensoriales, puede afectar su estado físico, reducir las tasas de reproducción (Márquez and Bosch, 2000), reducir su potencial competitivo y tener un mayor riesgo de depredación (Fuller and Houle, 2002; Costa et al., 2016). Por ello, es necesario la observación de cambios en el desarrollo de los individuos (por ejemplo, variaciones en la simetría), ya que también se puede utilizar para evaluar las perturbaciones ambientales e indicar la salud ambiental (Sanseverino and Messimian, 2008; Beasley et al., 2013; Niemeier et al., 2019; Zakharov et al., 2020).

La asimetría fluctuante (FA) es una desviación sutil, aleatoria y no direccional de la simetría perfecta de los rasgos bilaterales (Van Valen, 1962; Palmer and Strobeck, 1986). La asimetría fluctuante se diferencia de otras asimetrías (asimetría direccional y antisimetría) las cuales son adaptativas y no reflejan la inestabilidad del desarrollo (Palmer and Strobeck, 1986; Donguen, 2006). La asimetría fluctuante se empezó a usar a mediados de 1960, para medir los efectos de los factores estresantes y actualmente también es utilizada como una herramienta de biomonitorio utilizada con diversos grupos taxonómicos (Sanseverino and Messimian, 2008). Esta herramienta cuenta con ventajas como, bajo costo, fácil de medir y se puede calcular instantáneamente, sin necesidad de albergar las muestras (Costa and Nomura, 2016). Si bien, la asimetría fluctuante puede ser evaluada por dos enfoques: (i) la morfometría tradicional o lineal que involucra medidas lineales, como las medidas métricas (longitudes) o rasgos merísticos (conteos), tanto en el lado izquierdo como derecho de los organismos (Palmer and Strobeck 1986), y (ii) la morfometría geométrica, que evalúa la morfología de los organismos considerando su tridimensionalidad. Con el avance de las herramientas computacionales, en los últimos años se empezó a usar el enfoque de la morfometría geométrica para evaluar diferentes cuestiones incluido la asimetría fluctuante (Klingenberg et al., 2002; Klingenberg, 2015). Ya que, la morfometría geométrica permite determinar y cuantificar cambios directamente desde la forma, reduciendo la tasa de error de medición y permitiendo la estimación de variaciones más sutiles y exactas para el cálculo de asimetría fluctuante (Zelditch et al., 2009; Benítez and Parra, 2011; Zakharov et al., 2020). Muchos estudios han utilizado la asimetría fluctuante como medida de la inestabilidad del desarrollo y han intentado

correlacionar con medidas de exposición al estrés (Klingenberg, 2003; Zhelev et al., 2019). Ya que, la asimetría fluctuante refleja cambios a largo plazo en el estado corporal de estos organismos, cuando se encuentran expuestos a diferentes condiciones como: temperaturas extremas (Parsons, 1990), metales pesados (Zhelev et al., 2014, Guo et al., 2017), pesticidas y fertilizantes (Costa and Nomura, 2016; Zhelev et al., 2017), cambios en el uso del suelo, urbanización, desechos orgánicos (Costa et al., 2017; Saber et al., 2017; Zhelev et al., 2019; Godim et al., 2020), cambios climáticos, parasitismo y escasez de alimentos, los cuales están causando aumento de inestabilidad del desarrollo (Palmer 1994; Godim et al., 2020). Por ello se dice que es un indicador de estrés multifactorial e inespecífico (Romero and Terhune, 2018).

En las últimas décadas se ha desarrollado muchos trabajos utilizando diferentes métodos para evaluar la asimetría fluctuante en diferentes grupos taxonómicos, tales como mamíferos (Coda et al., 2017; Castilheiro et al., 2022), peces (Lajus et al., 2014; Lajus et al., 2019), aves (Herring et al., 2017), insectos (Rech et al., 2022), plantas (Zverev et al., 2018) e inclusive anfibios. En el caso de los anfibios, algunos ejemplos son estudios de Söderman et al. (2007), McCoy and Harris (2003), Montalvão et al. (2018), Zhelev et al. (2018, 2022) en estos estudios se muestra una relación directa entre los factores de alteración antropogénica y el aumento de la FA. Pero existen algunos estudios como de Earl and Whiteman (2009); Eterovick et al. (2015); Eterovick et al. (2016) y Zhelev et al., (2021), los cuales no observan una relación entre los agentes estresantes sobre la FA de los rasgos medidos de los anfibios. La existencia de las variaciones de los resultados en los estudios de asimetría fluctuante en anfibios, nos indicaría que a pesar de que los anfibios son buenos bioindicadores de estrés ambiental (Bridges and Semlitsch, 2000). Su efectividad puede variar entre especies y con el tipo de estrés, por ello los esfuerzos de las investigaciones deben centrarse en abordar la cuestión de qué ocasiona que algunas especies sean vulnerables y otras resistentes a las alteraciones (Blaustein and Wake, 1995; Bridges and Semlitsch, 2000; Blaustein et al., 2018). Así mismo, las variables que se van a medir del organismo debe seleccionarse cuidadosamente, ya que pequeñas diferencias en los métodos y diseños experimentales pueden conducir a resultados diferentes (Levin et al., 2012; Blaustein et al., 2018).

En este escenario, es necesario una evaluación de la producción científica que puede resaltar cuáles son las tendencias y lagunas de conocimiento y, así, orientar a futuros estudios con el objetivo de comprender mejor como las alteraciones antropogénicas influyen en la asimetría fluctuante de los anfibios. Y una de las formas de evaluación de la actividad científica es la cienciometría (Vanti, 2002). Que puede definirse como una técnica cuantitativa o cualitativa de evaluación de la producción científica o tecnológica, en especial de artículos científicos con el fin de investigar el desarrollo, la estructura, dinámica, tendencias y relaciones de la práctica científica (Vanti, 2002; Michan and Muñoz-Velasco, 2013, Sánchez et al., 2016). Por lo tanto, este estudio tuvo como objetivo realizar un análisis cienciométrico sobre la asimetría fluctuante de anfibios en ambientes con alteración antropogénica, buscando comprender las tendencias de publicación en el período de 1962 a junio del 2022, detectando los sesgos e indicando direcciones futuras para estudios científicos sobre este tema.

2. OBJETIVOS

2.1 General

El presente estudio tiene como objetivo general, analizar las variaciones y tendencias de los estudios que evalúan el efecto de los agentes estresantes sobre la asimetría fluctuante de los anfibios.

2.2 Específicos

Esta investigación tiene como objetivos hacer una revisión cuantitativa, buscando:

- Evaluar la progresión de estudios de asimetría fluctuante con anfibios en áreas alteradas a través del tiempo a partir de los primeros registros de estudios observados.
- Identificar los tipos de ambientes evaluados en los estudios de asimetría fluctuante con anfibios en áreas alteradas.
- Determinar la distribución geográfica de los estudios de asimetría fluctuante con anfibios en áreas alteradas.
- Evaluar los agentes estresantes evaluados en los estudios de asimetría fluctuante en anfibios.
- Identificar familias y especies de anfibios comúnmente utilizadas en estudios de asimetría fluctuante con anfibios en áreas alteradas.
- Identificar tendencias, variaciones en la metodología, posibles sesgos metodológicos y comprender cómo ha evolucionado esta línea de investigación.
- Evidenciar si existe relación en la frecuencia de observación de la presencia de asimetría fluctuante con: los tipos de estudio, tipos de agentes estresantes, etapas de vida, tipos de ambientes y con los tipos de rasgos medidos.

3 MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio se utilizó un abordaje cuantitativo a través de la revisión de publicaciones sobre la evaluación de diferentes agentes estresores en la asimetría fluctuante de los anfibios. Para el análisis cuantitativo, hemos seguido con la propuesta teórico-metodológica de Michán y Muñoz-Velasco (2013), que poseen las siguientes etapas: (1) recuperación, (2) migración, (3) análisis, (4) visualización e (5) interpretación de los padrones.

3.1 Etapa de recuperación

La fase de recuperación se realizó mediante la búsqueda de artículos, primero se empezó buscando en bases Google Académico, Scopus y Scielo durante los años 1962 a junio del 2022. La búsqueda comenzó en 1962, porque ese año se publicó el primer estudio sobre asimetría fluctuante (Van Valen, 1962). La búsqueda se realizó mediante una combinación de las siguientes palabras en inglés: “environmental disturbance” OR “environmental stress” OR “human disturbance” OR “contamination” OR “Agrochemicals” OR “pollution” OR “ecotoxicology” OR “anthropogenic disturbance” OR “habitat loss” OR “land-use change” OR “climate change” OR disturbance* OR fragment* OR urban* OR agriculture* OR farm* OR deforest* OR logging* OR cattle* OR grazing OR plantation* AND “fluctuating asymmetry” OR “developmental instability” OR “developmental stability” AND “amphibians” OR “tadpoles” OR “anura” OR “frog” OR “salamanders”. La búsqueda se limitó a artículos publicados en inglés, español y portugués. Se encontró 1275 artículos en Google académico, 33 artículos en Scopus y 49 artículos en Scielo, luego se eliminaron los artículos duplicados quedándonos con 1105 artículos.

Luego se filtró leyendo los títulos y resúmenes, donde se excluyó los artículos irrelevantes (estudios de otras áreas de conocimiento, con otros grupos taxonómicos, etc.), encontrándose 112 artículos (figura 1). Luego se empezó a leer cada artículo completo y se emplearon algunos criterios de inclusión y exclusión para seleccionar los artículos que ingresaran a nuestra base de datos. Los criterios de inclusión fueron: (i) que los datos están publicados en una revista científica y se encuentren disponibles en los motores de búsqueda; (ii) artículos que informen el país y (iii) área donde se realizó el estudio; (iv) el tipo de

ambiente de donde se recolectó los individuos; (v) el número de individuos recolectados; (vi) el tipo de agente estresante al que son expuestos los individuos de estudio; (vii) las especies que usaron; (viii) que informen la etapa de desarrollo de los individuos del estudio; (ix) los caracteres morfológicos que se midieron; (x) tipo de índice de asimetría fluctuante y (xi) que evalúen la correlación de la asimetría fluctuante en anfibios con el área con alteración antropogénica. Los criterios de exclusión fueron: (i) disertaciones, tesis y monografías; (ii) artículos de revisión; (iii) que el enfoque de asimetría fluctuante en anfibios no se encuentre relacionado con alteración antropogénica (iv) la especie de estudio y (v) el rasgo o carácter medido que se usó para evaluar asimetría fluctuante. En total, once criterios de inclusión y cinco criterios de exclusión aplicados para la evaluación de cada artículo que se agregaba a nuestra base de datos.

3.2 Etapa de migración

La fase de migración se realizó mediante la obtención de información de los artículos finales que serán analizados. Se extrajo las siguientes informaciones de cada artículo: (i) año de publicación del estudio, (ii) revista publicada, (iii) país donde se realizó el estudio, (iv) la ecorregión, bioma, (v) número de áreas de colecta, (vi) altitud, (vii y viii) latitud y longitud de las áreas de colecta, (ix) tipo de ambiente del área de colecta (lénticos, lóticos o terrestres), (x) tipo de estudio (laboratorio o muestreo en campo); (xi) tipo alteración antropogénica (física o química), (xii) tipo de agente estresante (construcción y urbanismo, deforestación, uso agropastoral, agroquímicos, desechos domésticos/industriales, metales pesados, áreas acidas, radiación), (xiii y xiv) especies y familias de los individuos de estudio, (xv) etapa del ciclo de vida (renacuajo, juvenil o adulto), (xvi) número total de individuos recolectados, (xvii) rasgos o caracteres tomados en cuenta, (xviii) número de caracteres o rasgos tomados en cuenta, (xix) tipo de medida del rasgo (métrica o merística), (xx) número de repeticiones de las medidas de los rasgos, (xxi) tipo de asimetría fluctuante (lineal o morfométrica), (xxii) tipo de índice de asimetría fluctuante (índices tradicionales, índices compuestos, índice de frecuencia de manifestación de asimetría de un individuo), (xxiii) tipo de análisis estadístico y (xxiv) si existe relación significativa de la asimetría fluctuante; (xxv) se tomará en cuenta si se examinó la asimetría direccional y antisimétrica y, (xxvi) si se realizó una corrección de ello, igualmente para el error de medición. Se utilizó la

plataforma en línea *Amphibian Species on the World 6.1* (Frost, 2021) para obtener información taxonómica actualizada sobre la especie. Para la identificación y estandarización de los biomas y ecorregiones se siguió de acuerdo con la clasificación de Olson et al., 2001, haciendo uso de la plataforma en línea *Data Basin* (CBI, 2021), utilizando como base las coordenadas geográficas de las zonas de estudio. Y para los índices de asimetría fluctuante encontrados en los artículos, se agruparon en tres grupos según los autores que estudiaron dichos índices. El primer grupo son diez índices tradicionales de asimetría fluctuante (e.g., FA1, FA2, FA3, FA4, FA5, FA6, FA7, FA8, FA9 y FA10) de los autores Palmer and Strobeck (1986). El segundo grupo son los índices de frecuencia de manifestación de asimetría de un individuo (e.g., FAMI, FAMIInd y FAMF) de los autores Peskova and Zhukova (2007) y Zhakarov et al. (2000). Y por último los índices compuestos de asimetría fluctuante (CFA) de los autores Leung et al. (2000).

3.3 Etapa de análisis

Los datos cuantitativos se analizaron mediante estadística descriptiva y los datos se presentan como promedio \pm desviación estándar. Para comprobar si existen tendencias en la relación entre la presencia/ausencia de asimetría fluctuante y las variables categóricas - tipo de estudio, tipo de agente estresante, etapa de vida, tipo de ambiente y tipo de rasgo medido- se utilizó el test de Chi-cuadrado. Para estos análisis estadísticos y para la obtención de gráficos se utilizó el software R versión 4.2.1 (R Development Core Team, 2020), usando los paquetes como “readxl” que permitió leer los archivos de Excel e importarlos a Rstudio (Wickham and Bryan, 2022), otro paquete usado fue “ggplot2” que permitió producir gráficos estadísticos (Wickham, 2016), también para variar los gráficos se utilizó el paquete “plotrix” el cual permitió elaborar diagramas de sectores en 3D (Lemon, 2006) y por último se usó “rworldmap” para cartografiar conjuntos de datos a nivel de país, facilitando la unión de estos datos a mapas mundiales modernos y dando como resultado gráficos de países (South, 2011).

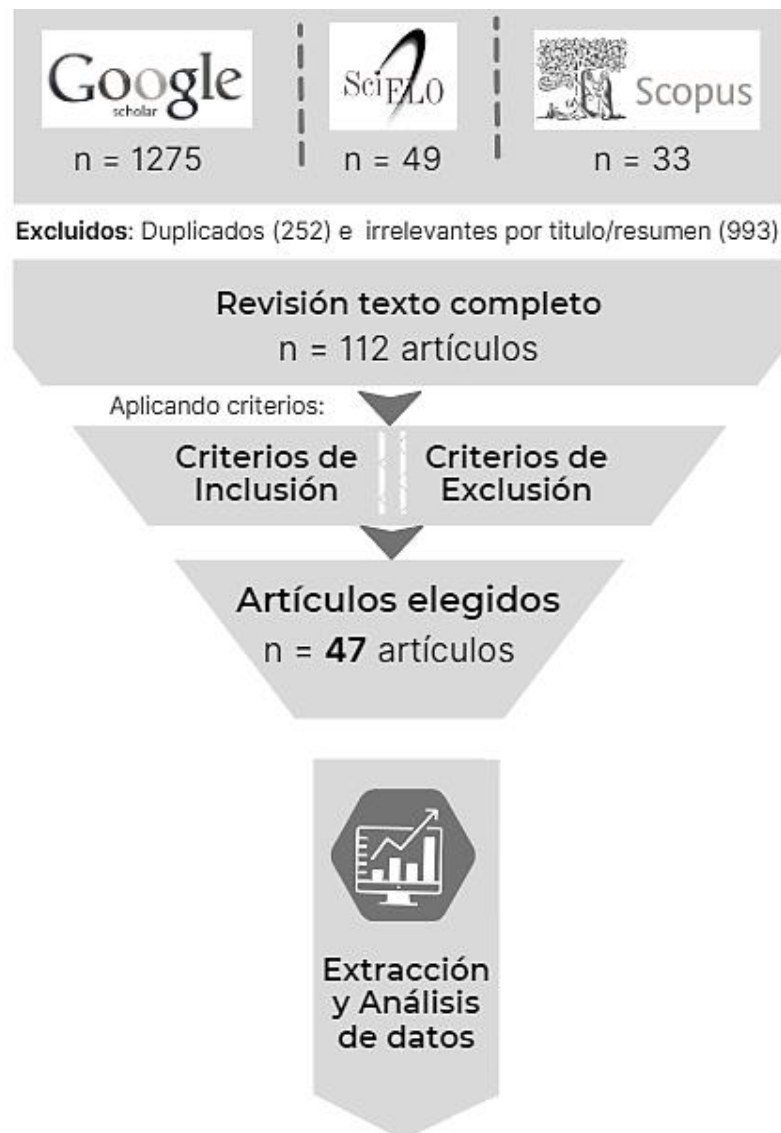


Figura 1. Diagrama de búsqueda y selección de artículos desde el periodo de 1962 hasta 2022 (junio), para el proceso de la revisión bibliométrica.

4 RESULTADOS

Luego de aplicar los criterios de inclusión y exclusión se llegó a contabilizar solo 47 artículos, que cumplían con todo los criterios para nuestro análisis, dentro del periodo revisado desde 1962 hasta 2022 (junio) (Figura 1). En ese lapso temporal, los primeros artículos que cumplían con los criterios de inclusión se registraron en el año 2001 y se observó una tendencia al incremento a partir de ese año, hasta el 2016 y 2017. Después de este año, la tendencia fue a la baja hasta junio del 2022 (Figura 2).

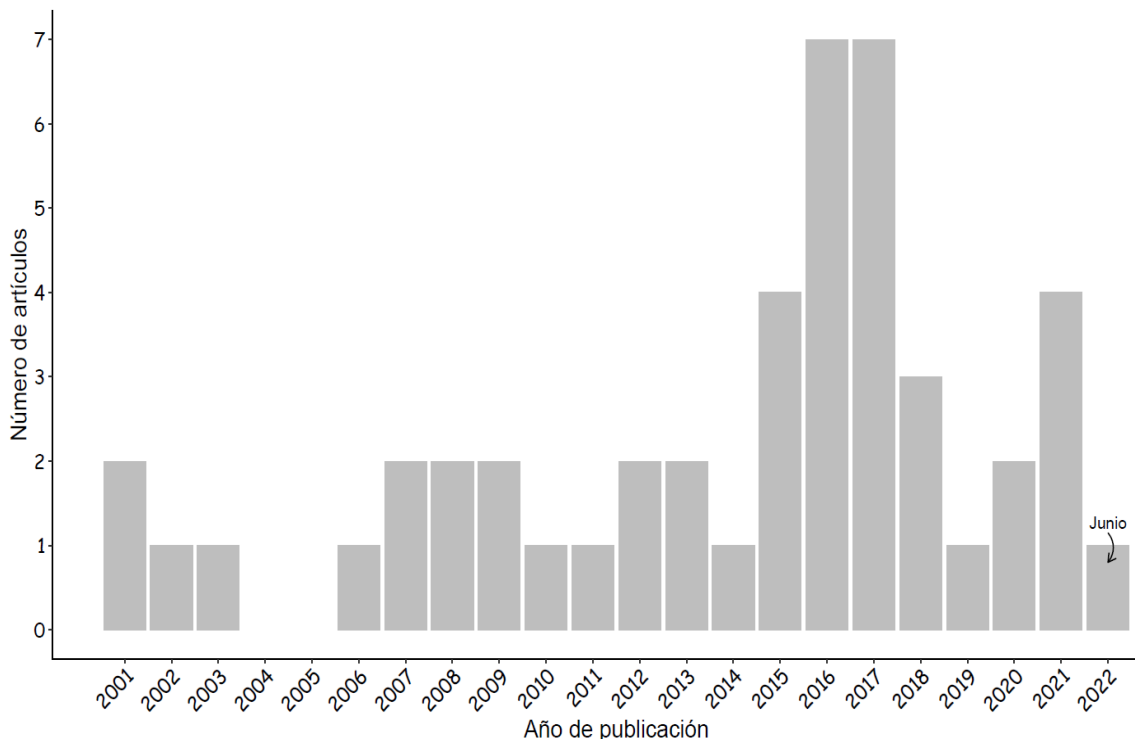


Figura 2. Número de artículos publicados que evalúan el efecto de los factores de estrés sobre la asimetría fluctuante, en anfibios publicados entre el 2001 y el 2022 (junio).

Los estudios se publicaron en 39 revistas en total. En la revista *Acta Zoologica Bulgaria* se publicó la mayoría de los artículos ocupando un 12.8% (n=6); seguidos por tres revistas como son *Journal of Herpetology*, *Russian Journal of Development Biology* y *Turkish Journal of Zoology* con un 4.3% (n=2) cada una y las 35 revistas restantes están con un 2.1% (n=1).

4.1 Distribución geográfica y ambientes investigados

Los estudios de asimetría fluctuante con anfibios se llevaron a cabo en 15 países, observándose la mayoría de las investigaciones se llevaron a cabo en Bulgaria, seguida de Brasil y luego los Estados Unidos de América (Figura 3).

Entonces, el continente donde se realizó más estudios vendría a ser Europa (n=23), seguido de las Américas (n=16) y por último África (n=3) y Oceanía (n=3) y Asia con dos artículos.

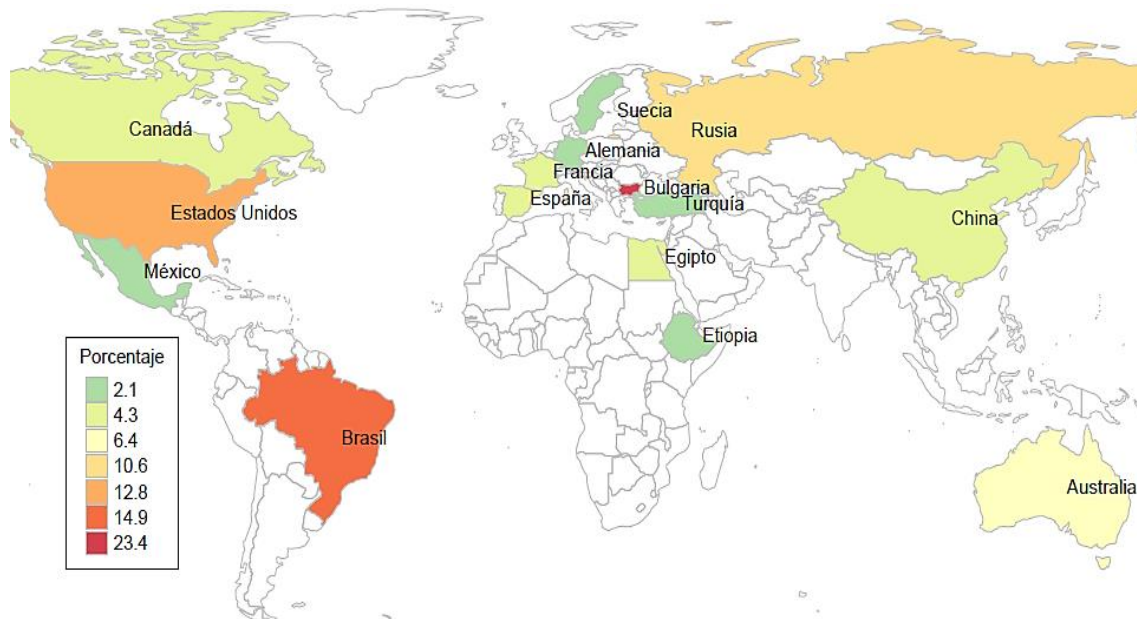


Figura 3. Distribución geográfica de los estudios que asocian el impacto de los estresores en la asimetría fluctuante de los anfibios por país. Los datos se presentan por porcentaje de estudios con relación al total de 47 artículos publicados entre 1962 y junio de 2022.

Las investigaciones con efectos estresantes sobre los anfibios se llevaron a cabo en 38 ecorregiones pertenecientes a 11 biomas, siguiendo la clasificación de ecorregiones de Olson et al. (2001). (Figura 4). La mayoría de los estudios (n=29, 61.7%) solo estudió una ecorregión que corresponde a un bioma, los otros estudios estudiaron dos (n=14, 29.8%) y algunos tres ecorregiones (n=4, 8.5%) que pertenecían a distintos biomas. De todos los biomas el más destacado que se encontró en muchos artículos fue el bioma Bosques templados latifoliados y mixtos 59.5% (n=28), seguido del bioma Praderas, sabanas y matorrales tropicales y subtropicales con el 15% (n=7) de los estudios y los demás biomas aparecieron en menos de seis artículos con 25.5%. En las ecorregiones el mayor número de artículos fue de la ecorregión Bosques mixtos de los Balcanes 25.6% (n=10), seguida por los trabajos realizados en el Cerrado 15.4% (n=6) con y las demás ecorregiones aparecieron en menos de cinco artículos que ocupa un 41% (Figura 4).

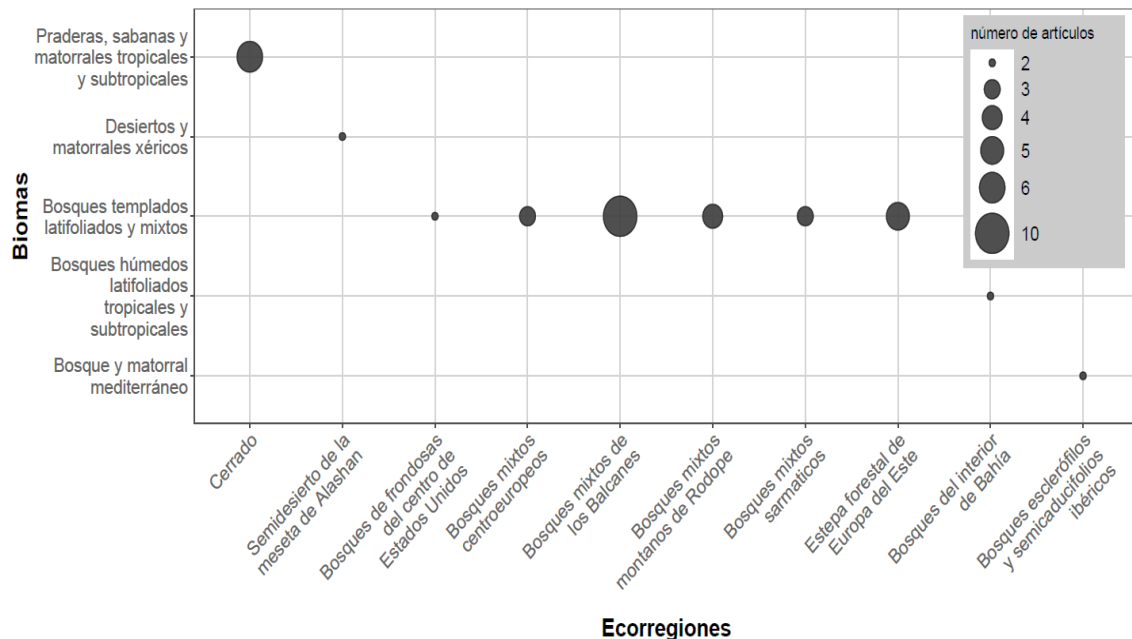


Figura 4. Distribución de los artículos sobre los efectos de los agentes estresores en la asimetría fluctuante en anfibios separados por ecorregiones y biomas según Olson et al. (2001). Graficando solo 10 ecorregiones y biomas con más artículos encontrados.

En cuanto a los ecosistemas más estudiados, el 55% de los ambientes fueron lénticos (e.g., pantanos, lagos, estanques y represas), 26% de los estudios fueron realizados en ambientes lóticos (e.g., ríos, arroyos, canales, etc.) y 4% en ambientes terrestres. Cabe señalar que algunos artículos (15%) tomaron dos o más ambientes para analizar los efectos de los factores estresantes en la asimetría fluctuante de los anfibios.

4.2 Características de los individuos de estudio

Se ubicaron investigaciones con 35 especies pertenecientes a 12 familias de anfibios, siendo 1 familia del orden Caudata y 11 familias del orden Anura. Las familias más estudiadas fueron: Ranidae en 22 artículos (47%), seguida de Bufonidae (13%), luego Hylidae y Leptodactylidae (6% cada una), Ambystomatidae (4%) y por último Eleutherodactylidae, Limnodynastidae, Myobatrachidae con 2% cada una. También existieron ocho artículos que analizaron distintas especies que correspondían a dos o más familias con 17% (Figura 5).

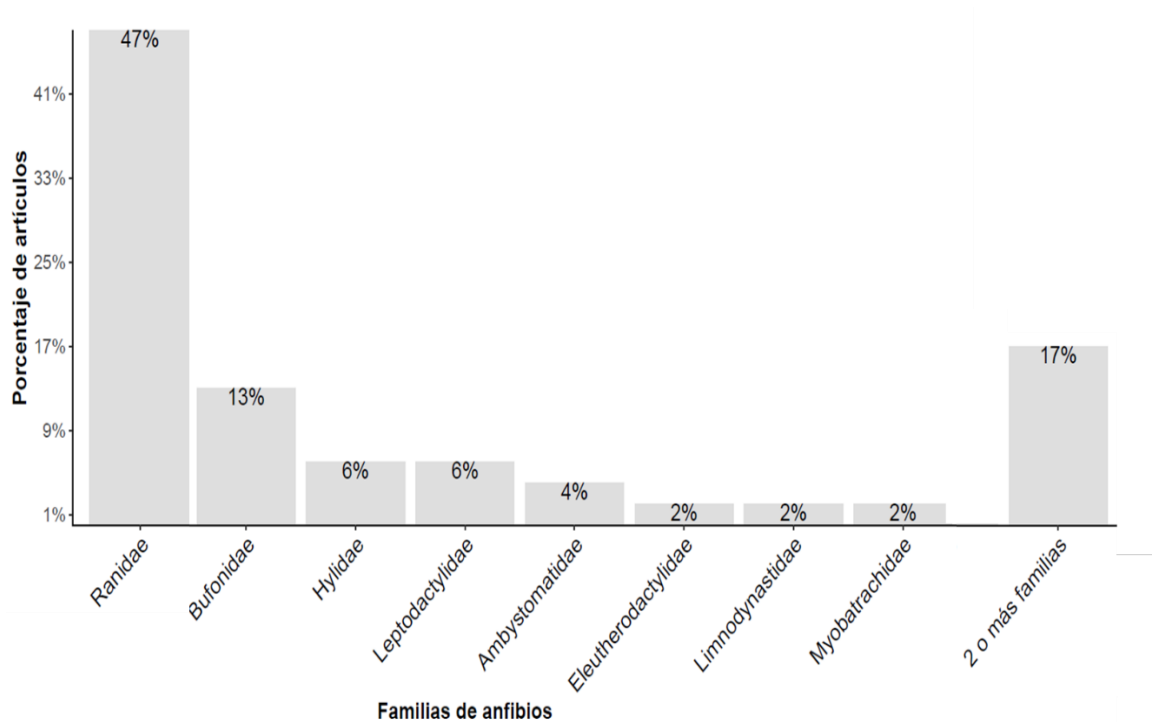


Figura 5. Porcentaje de las familias de anfibios utilizados en los artículos sobre asimetría fluctuante de un total de 47 publicaciones evaluadas en este estudio, entre los años 1962-2022 (junio).

Se identificó sólo una especie analizada en el orden Caudata y 34 especies fueron del orden Anura. Además, la familia que registró más especies analizadas fue Ranidae y Bufonidae con ocho especies cada una. La especie más usada fue *Pelophylax ridibundus* registrada en 15 artículos.

La mayoría de los estudios realizados buscando relacionar los efectos de los estresores sobre la asimetría fluctuante de los anfibios, fueron estudios con muestreos en campo 87% y 13% fueron estudios realizados en laboratorio. De los estudios con muestreos de campo, varió el número de individuos analizados, observándose el número mínimo de individuos recolectados con 19 individuos y el número máximo con 919 individuos (270.11 ± 217.26). Además, los artículos con estudios en campo utilizaron diferentes números de especies: una especie ($n=33$), dos especies ($n=4$), tres especies ($n=3$) y siete especies ($n=1$). Estos estudios utilizaron en su mayoría individuos adultos ($n=28$), seguido por renacuajos ($n=2$), otros no mencionaron estadio ($n=5$) y por último algunos utilizaron tanto juveniles y adultos ($n=6$). También, estos estudios realizados en campo evaluaron los dos tipos de alteración antropogénica (físico y químico) y el agente estresante más estudiado fueron los agroquímicos.

En los estudios realizados en laboratorio, el número mínimo de individuos fue 60 y el número máximo 364 individuos (195.83 ± 98.5). En cuanto al uso de especies se usaron: una especie ($n=5$) y dos especies ($n=1$). En las investigaciones de laboratorio, usaron solo individuos juveniles ($n=3$) y renacuajos ($n=3$). En pruebas de laboratorio, sólo se evaluaron los efectos de los estresores químicos, siendo el más utilizado los agroquímicos.

En general, de los 47 artículos revisados en total, se encontró que el 58% estudio individuos adultos, 6% evaluó a juveniles y 11% estudiaron renacuajos que se encontraban principalmente entre los estadios 23 al 39 según la clasificación de Gosner (1960). También cabe señalar que 14% estudiaron tanto los juveniles como los adultos. Por otra parte, existió un 11% que no brindaron información del estadio de vida de los anfibios que analizaron. De los artículos que usaron individuos adultos evaluaron alteración antropogénica más del tipo químico en 17 artículos, tipo físico se evaluó en siete artículos y tanto físico como químico en cuatro artículos. Igualmente, para individuos juveniles y renacuajos la mayoría fue evaluado con alteración de tipo química.

4.3 Agente estresante y tipo de alteración antropogénica

La alteración antropogénica evaluada con mayor frecuencia en estudios de asimetría fluctuante en anfibios fue la alteración química con un 57% ($n= 27$). De este grupo, los agentes estresantes más estudiados fueron el uso de agroquímicos con un 26%. El otro grupo de alteración antropogénica fue de tipo física que se evaluó en nueve artículos con un 20%. Dentro de este grupo el agente estresante que más se analizó fue los cambios en el paisaje por efecto derivado del avance de la urbanización con 9% y uso agropastoral también con 9%. Y existió 11 artículos (23%) que tomaron 2 o más agentes de ambos tipos de alteración antropogénica tipo químico y/o físico (figura 6).

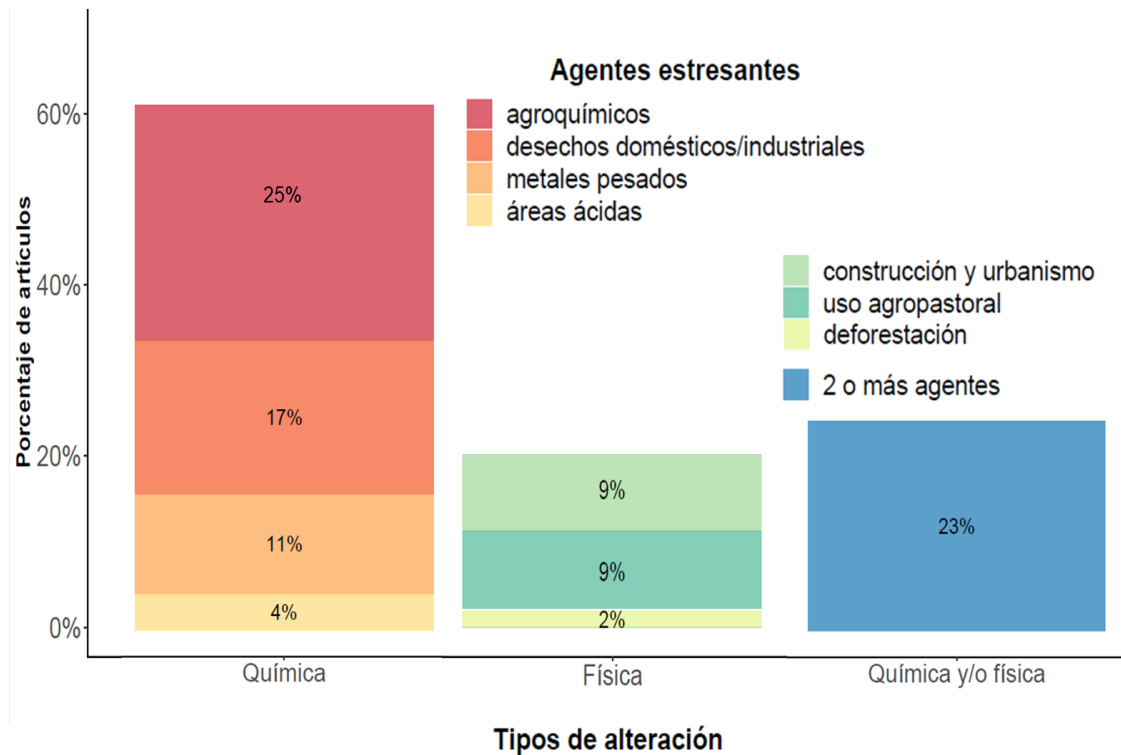


Figura 6. Porcentaje del número de artículos que evaluaron los factores de estrés agrupados según el tipo de alteración antrópica en la asimetría fluctuante en anfibios entre los años de 1962 hasta 2022 (junio).

4.4 Tipo de rasgos y estadio de vida

Los rasgos evaluados fueron principalmente métricos en el 62% de artículos analizados, mientras que en 38% de artículos analizados eran medidas de tipo merísticos. En general se tomaron en cuenta 72 rasgos diferentes, sin embargo al dividirlo por estadios tenemos: en el estadio adulto, se utilizarán 72 rasgos diferentes con un promedio de 7 ± 4 rasgos por investigación; mientras que en juveniles se utilizaron nueve rasgos con un promedio de 3 ± 2 rasgos por investigación y en renacuajos siete rasgos con un promedio de 4 ± 2 rasgos por investigación. Los rasgos merísticos más utilizados en los adultos fueron el número de manchas y el número de rayas en diversas partes del cuerpo. Para los individuos juveniles se midieron más rasgos métricos, como la longitud de tibia-fíbula y radio-ulna. Por último, para los renacuajos se utilizó más medidas métricas, como ancho y longitud de ojos (Figura 7).

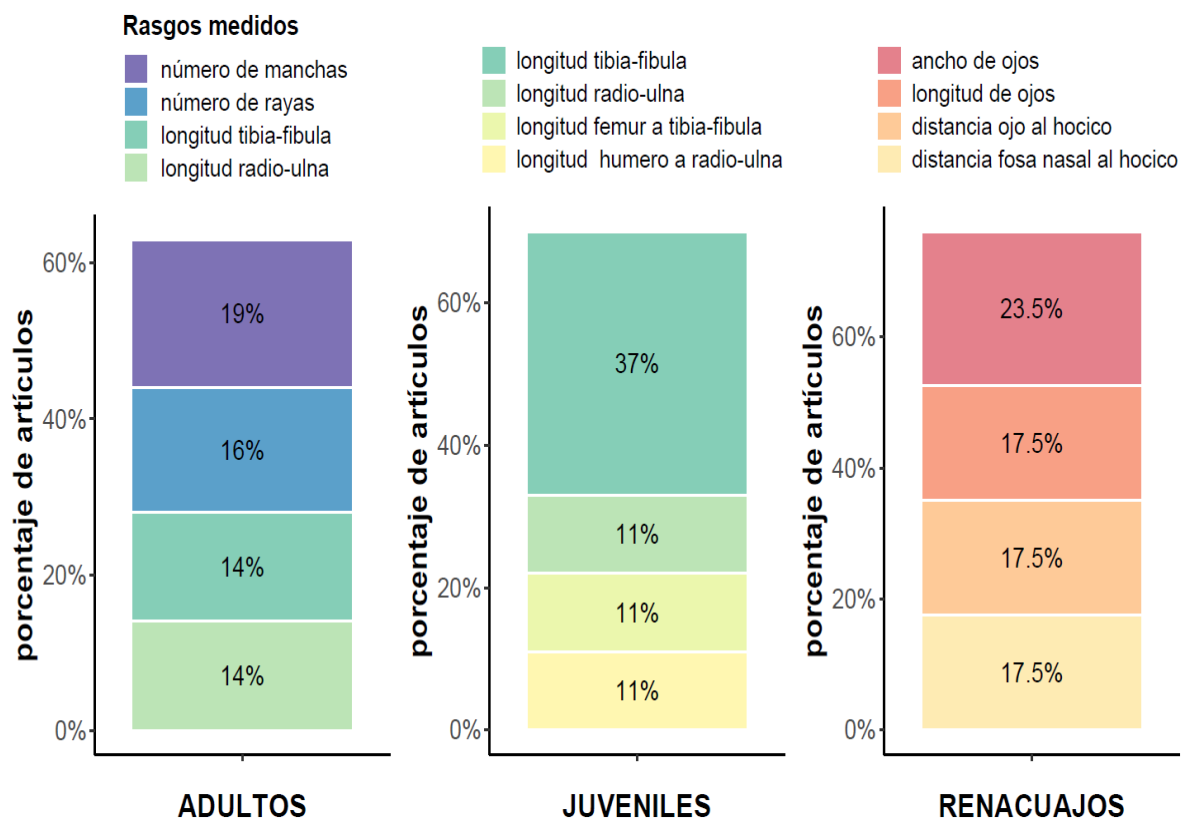


Figura 7. Porcentaje de los rasgos morfológicos medidos en los anfibios dividido según los estadios de vida y cuanto representan estos rasgos en relación al total de artículos analizados.

En cuanto a la repetición de las medidas de cada rasgo evaluado, el 45% de los artículos (n=21) realizó repeticiones, dentro de este grupo se encontró que 14 artículos llevaran a cabo tres repeticiones y en siete artículos realizaron dos repeticiones. En cambio, el 55% (n=26) no informó si realizó repetición.

4.5 Índices de asimetría fluctuante y otras asimetrías

Todos los artículos evaluados usaron asimetría fluctuante de tipo lineal y ninguno usó morfometría geométrica. El grupo de índices tradicionales de asimetría fluctuante enumerados (e.g., FA1, FA2, FA3, FA4 y FA10) han sido los más utilizados, estando presentes en 28 artículos. El grupo de índices de frecuencia de manifestación de asimetría de un individuo o de caracteres (e.g., FAMI, FAMIInd y FAMF) fueron utilizados en 15 artículos. Y los índices compuestos de asimetría fluctuante (CFA) de los autores Leung et al. (2000), se utilizaron en solo dos artículos. Es así que se observó, que de todo este grupo

se usó más un índice FAMI encontrándose en 17 artículos, seguido del índice FA1 con 13 artículos.

Se evaluó también si existía el efecto de asimetría fluctuante, dándonos que el 83% de artículos (n=39) si existió un efecto de asimetría fluctuante en el rasgo evaluado según el tipo de agente estresante. En 17% (n=8) de las investigaciones no existió efecto de los estresores en los rasgos evaluados. Y en la mayoría de los artículos analizados tomaron en cuenta otros tipos de asimetría, dando así que el 34% evaluó tanto antisimetría como asimetría direccional y el 6,4% solo evaluó asimetría direccional y más de la mitad el 59.6% no tomó en cuenta ninguna de estas asimetrías.

4.6 Patrones de ocurrencia de la asimetría fluctuante en anfibios

Se constató que existe una asociación entre los tipos de medida (i.e., métrico o merístico) y la probabilidad de encontrar un efecto de asimetría fluctuante ($\chi^2=5.05$; $P=0.024$). Los estudios que analizaron las medidas de tipo métrico observaron una mayor frecuencia de aparición de la asimetría fluctuante en los anfibios. Mientras que la frecuencia observada de asimetría fluctuante en los estudios que evaluaron medidas de tipo merística no difería de lo esperado. En relación con el tipo de estudio, se observó que no existe asociación entre la ocurrencia de asimetría fluctuante y el hecho de que el estudio se haya realizado con muestreo en campo o en laboratorio ($\chi^2=0.152$; $P=0.697$). Igualmente, se visualizó que no hay asociación entre los tipos de alteración antropogénica (i.e., química o física) y la probabilidad de encontrar un efecto de asimetría fluctuante ($\chi^2=3.287$; $P=0.193$). También, se comprobó que no existe asociación entre la ocurrencia de asimetría fluctuante y el hecho de que el estudio se haya realizado con muestreos en ambientes, lénticos, lóticos o terrestres ($\chi^2=3.013$; $P=0.389$). Y por último, se determinó que tampoco existe asociación entre la ocurrencia de asimetría fluctuante y el hecho de que el estudio se haya realizado con individuos del estadio adulto, juveniles o renacuajos ($\chi^2=4.185$; $P=0.382$) (Apéndice, Tabla A2)

DISCUSIÓN

Los primeros artículos se registraron en el año 2001 y se observó una tendencia al incremento a partir de ese año hasta el año 2016, después, hubo una sutil tendencia a disminuir hasta junio del 2022. Los estudios con asimetría fluctuante comenzaron en la década de 1960 con Van Valen (1962). Los primeros artículos de asimetría fluctuante de anfibios se registraron en el año 2001 (Gallant and Teather, 2001; Chubinishvili, 2001). Ello podría ser debido a que durante la década de 1990 (Blaustein, 1990), la información sobre declives y extinciones apareció rápidamente, donde los investigadores comenzaron a prestar atención a este problema (Stuart et al. 2004, Beebee and Griffiths, 2005). Y junto con la creciente preocupación por los niveles de contaminación ambiental y el desarrollo de investigaciones ecotoxicológicas, pudo haber causado un aumento significativo en publicaciones desde la década de 2000 (Sparling et al., 2010) hasta el año 2017. Así con el tiempo, los estudios con asimetría fluctuante comenzaron a ser más utilizados debido a su importancia ecológica y de conservación (Coda et al., 2017), ya que es considerado un biomarcador potencial de estrés ambiental en anfibios relativamente barato (Lens et al., 2002; Lens and Eggermont, 2008). Luego de ahí existió una sutil disminución probablemente debido a que se dejó de usar la asimetría fluctuante en anfibios como herramienta de bioindicación. También se entiende la disminución de artículos en el año 2022, ya que solo se realizó la búsqueda de artículos hasta la mitad del año (mes de junio).

Destacamos un resultado interesante, que el número de artículos en el área está influenciado por la falta de diversidad de los investigadores. Por lo tanto, las deducciones sobre área, especies, rasgo elegido, índice de FA más estudiadas esta sesgado. Ya que la mayoría de los artículos son del autor Zhelev y colaboradores quien realiza la mayoría de artículos usando las mismas variables de estudios.

En cuanto a la ecorregión y bioma más estudiados, fue la ecorregión Bosques mixtos de los Balcanes insertada en el bioma de Bosques Templados Latifoliados y Mixtos ubicado en el sudeste de Europa (Dinerstein et al., 2017). Esta ecorregión cubre una gran parte de los valles, llanuras y laderas de las montañas de los Balcanes orientales, principalmente el país de Bulgaria (Eastwood, 2004; Griffiths et al., 2004; Dinerstein et al., 2017). La gran cantidad

de artículos encontrados en dicha ecorregión, se da por que esta ecorregión ocupa la mayor parte del país de Bulgaria, que es el país donde tiene su sede el laboratorio coordinado por Zhelev y sus colaboradores, quienes son autores de todos los artículos que utilizaron como ecorregion de estudio a la ecorregión de bosque mixtos de los Balcanes y al bioma de Bosques latifoliados y mixtos (e.g., Zhelev et al., 2019; Zhelev et al., 2021; Zhelev et al. 2022).

Los estudios realizados para evaluar la presencia de asimetría fluctuante en anfibios se llevaron a cabo en su mayoría en ambientes lénticos. Debido al ciclo de vida de los anfibios, pues varias especies ocupan mayormente ambientes lénticos durante su fase larvaria y los ambientes terrestres durante su vida adulta (Gibbons, 2003; Pellet et al., 2007). De este modo, los anfibios favorecen la conexión existente entre los hábitats lénticos con los terrestres, lo cual genera un movimiento dinámico de energía y nutrientes entre los dos sistemas (Nakano and Murakami, 2001; Lamberti et al., 2010). Además, los ambientes lénticos se caracterizan porque el agua está en reposo o se mueve lentamente, debido a ello el impacto de las actividades antrópicas en estos hábitats es más rápido y severo (Hortal et al., 2014; Christofolletti et al., 2015; Meester et al., 2005). Además, porque la mayoría de las especies de anfibios utilizan ambientes lénticos para reproducirse (Haddad and Prado, 2005). Por lo tanto, la biomonitorización de estos ecosistemas es extremadamente necesaria. Es necesario aclarar que este resultado no está influenciado por el sesgo de la mayoría de los estudios del autor Zhelev, ya que igual si excluimos esos artículos. La brecha de estudios en ambientes lenticos es tan grande a comparación con ambientes loticos y terrestres. Observando, una flagrante falta de estudios en ambientes lóticos y terrestres, que también son ocupados por muchas especies de anfibios.

La investigación científica centrada en la asimetría fluctuante en los anfibios ha utilizado 35 especies como modelos biológicos, distribuidas en 15 familias, lo que corresponde al 20% del total de familias descritas para la clase Amphibia a nivel mundial (75 familias) (Frost, 2021). La familia Ranidae fue la más utilizada en términos de asimetría fluctuante, seguida de las familias Bufonidae e Hylidae. La elección de estas familias puede deberse a ciertas características como: alta riqueza de especies (Frost, 2021), amplio espectro de hábitats y facilidad para adaptarse a distintos ambientes lo que puede obedecer

a un comportamiento generalista (Wiens et al., 2009), también su ocurrencia en regiones tropicales y templadas, principalmente en Europa y América del Norte (Burggren and Warburton, 2007; Brito, 2008). Así mismo, es necesario aclarar que este resultado no está influenciado por el sesgo de la mayoría de los estudios del autor Zhelev, ya que igual si excluimos esos artículos. La brecha de artículos que estudiaron la familia Ranidae es tan grande a comparación con las otras familias. Observando, una flagrante falta de estudios en las demás familias existentes en el mundo.

Dentro de la familia Ranidae, la especie *Pelophylax ridibundus* fue la especie más utilizada como modelo biológico en los estudios sobre la asimetría fluctuante. Todos los artículos (n=12) que evaluaron la especie *Pelophylax ridibundus* en su estadio adulto, realizaron muestreo en campo, en ambientes lóticos o lenticos, midiendo solo caracteres merísticos (10 a 13 caracteres) y todos usaron el índice de frecuencia de manifestación de asimetría de un individuo (FAMI) para medir la asimetría fluctuante. Además, esta especie fue evaluada en áreas con diferentes agentes estresantes (tipo químico y físico), el agente estresante más evaluado fue los desechos domésticos (n=10) y en todos los artículos que utilizaron esta especie, si existió asimetría fluctuante. La mayoría de los estudios con *Pelophylax ridibundus* fueron llevados a en el bioma Bosques templados latifoliados y mixtos. Si bien estos resultados tienen un sesgo ya que destacar que la mayoría de los artículos que utilizó esta especie fueron artículos del autor Zhelev y sus colaboradores (n=10), lo cual podría influenciar con algunas características de relación con la especie *Pelophylax ridibundus*.

Las ranas verdes europeas como *Pelophylax ridibundus*, *P. lessonae* y *P. esculentus*, son especies evolutivamente jóvenes y ecológicamente plásticas con una serie de características favorables para el biomonitorio, tales como: habitar grandes áreas, tener alta densidad, tolerancia y capacidad para habitar áreas con un alto nivel de carga antrópica (Şişman et al., 2021). Así al usar estas características de esta especie, permiten que se realicen investigaciones en diferentes zonas utilizando los mismos rasgos y obteniendo resultados comparables (Chubinishvili, 1997, 1998; Zakharov et al., 2000; Nikashin, 2005; Peskova and Zhukova, 2007; Spirina, 2009; Lada et al., 2012; Zhelev et al., 2012, 2013). Además, *Pelophylax ridibundus* es uno de los principales componentes

de la herpetofauna limnética de Bulgaria que parece estar bien adaptada a vivir en hábitats contaminados antropogénicamente, y sin grandes cambios en la abundancia de la población (Vershinin, 2007). Esto hace que la especie sea útil para descubrir los mecanismos de supervivencia y también tiene propiedades que pueden contribuir a evaluar el riesgo antropogénico y el daño ambiental (Vasilev and Vasileva, 2009; Zhelev et al., 2015). Es por ello que muchos investigadores han aprovechado estas características de la especie *Pelophylax ridibundus*, para evaluar la asimetría fluctuante en áreas donde existía alteración antropogénica. También hemos podido notar que de los anfibios se estudió más las familias del orden anura, solo una familia del orden Caudata y ninguna familia del orden Gymnophiona, lo cual es un vacío de conocimiento al no realizarse estudios con las especies de estos grupos.

La mayoría de los artículos evaluaron la alteración antropogénica de tipo química y dentro de este grupo los agentes estresantes más evaluados fueron los agroquímicos, con una asociación positiva entre el uso de agroquímicos y la frecuencia de aparición de la asimetría fluctuante. Los anfibios corren un riesgo especial por los contaminantes agrícolas porque tienen una piel permeable y los huevos absorben fácilmente los productos químicos del medio ambiente (Blaustein and Kiesecker, 2002). El uso de agroquímicos se ha convertido en un componente importante durante décadas para las actividades agrícolas, permitiendo aumentos significativos en los rendimientos de los cultivos y la producción de alimentos necesarios para satisfacer el crecimiento exponencial de la población mundial (Carvalho, 2017). Sin embargo, como resultado de este uso extensivo, los residuos de agroquímicos se han ido esparciendo en el medio ambiente, lo que representa un riesgo potencial para los ecosistemas terrestres (Trapp et al., 2020), de agua dulce (Mirzaei et al., 2017) y marinos (Vanryckeghem et al., 2019). Es así que, los cuerpos de agua superficiales dentro de los paisajes agrícolas suelen ser los más vulnerables a la contaminación por agroquímicos (Declerck et al., 2006). Los tipos de ambientes tanto lenticos como loticos van a depender de sus entornos ambientales y del espacio-temporal en que se estudia este ecosistema (Ribera et al., 2001), es decir que algunas regiones existirá más presencia de ambientes lenticos que loticos, así mismo los investigadores evalúan más los ambientes que están más contaminados o los que se encuentran cerca de ambientes alterados. Así, pues

los ambientes lénticos son los más sujetos a la contaminación agrícola que los lóticos, debido al pequeño volumen de agua estancada que a menudo funciona como depósito de escorrentía de campos agrícolas y además de que la persistencia de la toxicidad puede extenderse por días o semanas (Declerck et al., 2006; Williams et al., 2003). Ambientes donde la mayoría de los anfibios se reproduce o se desarrolla (Haddad and Prado, 2005), quedando expuestos a estos contaminantes que se acumulan en el cuerpo de los anfibios teniendo el potencial de interrumpir su desarrollo, crecimiento y reproducción y alteración de su metabolismo y comportamiento (Geffard et al., 2002; Fan et al., 2007; Hayes et al., 2010; Spolyarich et al., 2011; Duarte-Guterman et al., 2014). Esta inestabilidad del desarrollo se evidencia con la asimetría fluctuante de los individuos y además nos da evidencia del estado ecológico de un área determinada sujeta a diferentes tipos de contaminación antropogénica (Zhelev et al., 2012; 2014).

La mayoría de los estudios se realizaron en campo (87%); sin embargo, no se encontró ninguna asociación entre la frecuencia de aparición de la asimetría fluctuante y el tipo de estudio (campo o laboratorio). La mayoría de los estudios con muestreos en campo han utilizado individuos en la etapa adulta para evaluar la asimetría fluctuante, mientras que los de laboratorio se llevaron a cabo con renacuajos. Ello se debe a la factibilidad en la medición de sus rasgos, la expresión de rasgos merísticos (rayas y manchas) y por poseer mayor tiempo de exposición en el ambiente alterado por ser el último estadio (Parris and Cornelius, 2004; Zhelev et al., 2019). A pesar de la gran importancia de la investigación de campo, deben fomentarse los estudios de laboratorio, ya que permiten controlar las variables (Aziz, 2017) que pueden interactuar con el agente de estrés antrópico e influir en los resultados obtenidos. En este sentido, una recomendación para futuros estudios es intentar unir los estudios de laboratorio con los de campo y realizar experimentos en mesocosmos en la búsqueda de una mejor comprensión de los efectos de los factores estresantes sobre los anfibios (Boone and James, 2005).

En cuanto al tamaño muestral, los estudios realizados con muestreos de campo recolectaron como mínimo 19 individuos y como máximo con 919 individuos (270.11 ± 217.26). Y en los estudios de laboratorio, recolectaron como mínimo 60 individuos y como máximo 364 individuos (195.83 ± 98.5). Benitez and

Parra (2012) hacen énfasis que como en cualquier análisis estadístico, el tamaño de la muestra recomendado depende de la magnitud de las diferencias en la "señal" (en este caso FA) entre muestras. Por ello, como regla empírica, un tamaño muestral de 30 individuos se considera un tamaño mínimo de la muestra en los estudios de FA, pero cuando existe inquietud en relación de las posibles desviaciones de la normalidad, un tamaño muestral de 40 o 50 sería más deseable (Palmer, 1994; Benitez and Parra, 2012). Por otro lado, Mogie and Cousins (2001) nos dicen que, debido a la naturaleza aleatoria inherente de las asimetrías, a menudo se requerirá un tamaño de muestra más grande (> 100 individuos), para estimar con precisión la varianza asociada con la asimetría fluctuante. Debido a que el tamaño de la muestra y el error influyen mucho en la capacidad de detectar desviaciones de la normalidad, es importante obtener una muestra amplia e imparcial (Palmer, 1994).

Entonces, si nos guiamos de que los estudios deben tener un tamaño muestral mayor a 100 individuos, en nuestro estudio existió dos artículos que recolectaron un tamaño muestral menor a 100 individuos y que no mencionaron si realizaron repeticiones (Vershinin et al., 2007; Valeeva and Karpov, 2017). Por ello, a estos autores se les recomendaría aumentar el tamaño muestral para estimar con precisión la varianza asociada con la asimetría fluctuante o el número de repeticiones de las medidas para reducir sesgos. También el estadio adulto demuestra ser una característica importante a considerar para evaluar la FA en anfibios.

Los rasgos más evaluados fueron principalmente métricos ocupando un 62% del total de artículos realizados, mientras que 38% de los rasgos fueron merísticos. La repetición de las mediciones de cada atributo es fundamental para medir la tasa de error, siendo que el 45% de artículos realizó dos o tres repeticiones, pero el 55% no informó si realizó repetición, ya que no siguen al pie de la letra lo que sugieren en su trabajo los autores Palmer y Strobeck (1986) para evaluar asimetría fluctuante en especies. La elección de los rasgos para estudiar la FA es importante y depende de la fuerza con la que su desarrollo se ve afectado por el ruido y de cómo el ruido y los procesos homeostáticos se ven afectados por los estímulos ambientales (Sheehan et al., 2011). Así vemos que, el uso de rasgos ecomorfológicos parece ser una herramienta útil para evaluar la relación entre la inestabilidad del desarrollo y el estrés ambiental, ya que se

puede utilizar con animales vivos, es fácil de obtener y muestra resultados similares a los obtenidos a partir de medidas de rasgos internos de animales sacrificados (Palmer, 1994; Coda, 2017). Varios autores han sugerido que se requieren utilizar múltiples rasgos (merísticos y/o métricos) para evaluar las diferencias en la inestabilidad del desarrollo en los análisis de medición lineal de la asimetría y no es suficiente con solo uno o dos rasgos (Leary and Allendorf, 1989; Palmer, 1994).

La elección de los rasgos a estudiar a menudo está dictada por conveniencia de los autores, pero dependiendo del rasgo que se elija, estos pueden tener una mayor variación inherente respecto a otros (Graham et al., 2010; Niemeier et al., 2019). Algunos de estos rasgos, se centran en evaluar características de fácil medición, pues una medición accesible reduce los niveles de error y por lo tanto facilita el cálculo de asimetrías más precisas (Benítez and Parra, 2011).

Por ejemplo, en algunos animales como las aves, los rasgos son importantes desde el punto de vista funcional, como los que intervienen en la locomoción, los cuales a su vez son menos variables que los rasgos sin importancia funcional, como los forámenes (Karvonen et al., 2003). En general, los rasgos funcionalmente poco importantes, incluidos los adornos seleccionados sexualmente, pueden ser más sensibles al estrés que los rasgos funcionalmente importantes (Van Dongen, 2006).

Los rasgos métricos si bien son menos variables que los rasgos merísticos y la variación es continua, por lo que la capacidad de detectar diferencias entre lados, o las desviaciones de FA, están limitadas únicamente por la precisión y exactitud de la medición y por ello se puede usar cualquier rasgo lo cual lo hace un buen indicador de FA y por ende de estrés ambiental (Palmer, 1994; Palmer and Strobeck, 2003; Benítez and Parra, 2011).

Sin embargo, también influye la manera de medición, sea de forma manual o con algún equipo especializado (Niemeier et al., 2019). Ya que, se ha comprobado que las medidas realizadas manualmente tiene mayor error de medición, por ello se recomienda realizarlo con equipos como tomógrafos (Niemeier et al., 2019). En cuanto a los caracteres merísticos, a menudo son más variables y menos canalizados que los caracteres métricos (Graham et al., 2010; Lajus, 2001). Así mismo, los caracteres merísticos tienen un sesgo incorporado

causado por umbrales en la distribución continua de estos rasgos (manchas irregulares, rayas juntas, etc.), que pueden causar errores al momento de contarlos (Graham et al., 2010). Para corregir ello, Young (2007) ha desarrollado una métrica de máxima verosimilitud imparcial para los rasgos merísticos, que permite eliminar el sesgo causado por los errores de conteo.

Por ello, cualquier uso de rasgos métricos en estudios de variación de FA debe ser acompañado de una estimación clara del tamaño del error de medición en relación con FA (Palmer and Strobeck, 2003). Ya que, al aumentar el número de mediciones repetidas en los mismos individuos puede aumentar sustancialmente la capacidad de discriminar diferencias de asimetría entre dos poblaciones, incluso en tamaños de muestra relativamente pequeños (20-40 individuos) (Dongen, 1999). Sin embargo, si no es posible medir todas las propiedades repetidamente porque el tamaño de la muestra es grande o las medidas son difíciles de obtener, se deben realizar pruebas para determinar el impacto del error de medición de cada rasgo en una submuestra de al menos 30 individuos (Palmer, 1994). Esto es necesario porque, existe el riesgo de 'falsos positivos' cuando no se considera el error de medición (ME) (Floate and Coghlin 2010, Hoffmann and Woods, 2003). Sin embargo, si la asimetría fluctuante es el interés principal, la presencia de asimetría direccional conducirá a cambios en el nivel de magnitud, por ello la asimetría direccional debe eliminarse para un análisis de FA preciso (Palmer and Strobeck, 2003). Por lo tanto, los estudios futuros deberían centrarse en comparar patrones entre rasgos, realizar repeticiones de las mediciones e incluir más cantidad de rasgos que reflejen de manera más confiable la inestabilidad del desarrollo con el método de asimetría fluctuante.

Independientemente de la métrica utilizada para evaluar la presencia de asimetría fluctuante, analizamos la relación entre la frecuencia de aparición de asimetría fluctuante y el tipo de índice de FA utilizado y no se observó relación. Todos los artículos evaluados usaron asimetría fluctuante de tipo lineal y ninguno uso morfometría geométrica. En las investigaciones se utilizaron tres grupos de índices, el grupo de índices tradicionales (i.e., FA1, FA2, FA3, FA4 y FA10; Palmer and Strobeck, 1986), los índices de frecuencia de manifestación de asimetría (i.e., FAMI, FAMInd y FAMF; Peskova and Zhukova, 2007) y, por último, los índices compuestos de asimetría fluctuante (i.e., CFA; Leung et al.,

2000). Verificando por separado dentro de cada grupo de índice, se observó que el índice FAMI (frecuencia de manifestación asimétrica de un individuo) era el más utilizado en 17 artículos, seguido del índice número 1 (FA1) .

Se ha observado que en los artículos analizados los índices más utilizados son del grupo de índices FAMI y del grupo de índices tradicionales solo fue FA1. El índice FAMI no quiere decir que sea robusto, solo que el autor Zhelev quien ha realizado muchos artículos de FA lo ha utilizado, lo cual podría ser un sesgo. Así mismo, otros autores de origen ruso lo han usado pero no sabemos por qué, ya que es difícil acceder a las bases de datos o difícil de traducir adecuadamente sus trabajos.

El otro índice FA1, es muy usado debido a su facilidad de calcular, pero tiene como desventaja que puede estar sesgado si hay asimetría direccional o antisimetría (Palmer, 1994). Este índice se ha usado en muchos estudio con macroinvertebrados, insectos, mamíferos, aves, peces y también en plantas (Bonada et al., 2005; Abaga et al., 2011; Coda et al., 2017). Así mismo, algunos autores usaron tanto el índice FA1 y el índice compuesto (CFA), llegando a concluir que el índice FA1 es mejor y más factible de calcular (Niemeier et al., 2020; Graham et al., 2010). Por otro lado, se han desarrollado muchas herramientas nuevas en el campo de la morfometría geométrica (Adams et al., 2013), incluidos métodos para estudiar la asimetría de forma (Savriama and Klingenberg, 2011). Estos métodos se han utilizado cada vez más para estudios de asimetría fluctuante en una amplia gama de organismos (Klingenberg, 2015). Este enfoque extiende la noción de forma utilizada en los estudios de asimetría fluctuante de conjuntos de distancias entre puntos de referencia morfológicos a un concepto de forma explícitamente geométrico caracterizado por la configuración de puntos de referencia (Klingenberg and McIntyre, 1998). Además, los estudios de asimetría fluctuante en el contexto de la morfometría geométrica han estimulado el desarrollo de nuevos enfoques y aplicaciones, como métodos para análisis morfométricos de simetría compleja (Savriama and Klingenberg, 2011) y el uso de la asimetría fluctuante como herramienta para investigar la base evolutiva de la integración morfológica (Klingenberg, 2003). Si bien en nuestro análisis no encontramos artículos que usaron morfometría geométrica para evaluar FA en anfibios que viven en ambientes alterados antropogénicamente, lo cual es una brecha de conocimiento, ya que este método

sería eficaz para evaluar la FA que minimiza los sesgos a diferencia de otros índices de FA.

En la mayoría de los artículos analizados tomaron en cuenta otros tipos de asimetría, dando así que el 34% evaluó tanto antisimetría (AA) como asimetría direccional (AD) y el 6,4% solo evaluó asimetría direccional y más de la mitad el 59.6% no tomó en cuenta ninguna de estas asimetrías. Segundo Palmer (1994) existen dos razones para evaluar también la existencia de asimetría direccional (AD) o elegir caracteres que no la exhiben, ya que: (1) la presencia de AD puede inflar artificialmente algunos índices de FA, y (2) un rasgo que exhibe AD puede tener una base genética en su variación entre lados, es decir, una parte que no se debe al estrés del desarrollo. En este último caso, se pueden aplicar algunas correcciones estadísticas (Graham et al. 1998; Dongen et al. 1999); de lo contrario, se deben realizar más pruebas estadísticas para tener en cuenta que parte de la variación entre lados se debe a AD, ya que a veces, esto puede incluir análisis extensivos de heredabilidad (Allenbach, 2011). Estas mismas dos razones también justifican las pruebas para AA, pero una diferencia importante es que generalmente no se han ofrecido correcciones estadísticas para AA (Palmer, 1994). Basándonos en esto, recomendamos que los futuros estudios que pretendan relacionar el efecto de los factores antrópicos sobre la asimetría fluctuante también tengan en cuenta los otros tipos de asimetría.

CONCLUSIÓN

Finalmente, según nuestros resultados, la mayoría de los artículos evaluados dieron a conocer que sí existió un efecto de asimetría fluctuante entre los anfibios y las áreas alteradas antropogénicamente (83%). Lo cual nos indicaría que los anfibios son buenos bioindicadores y que el uso de la FA, como herramienta para la medición en la inestabilidad del desarrollo, se pueden utilizar eficazmente como buen indicador de la calidad ambiental. Sin embargo, faltan estudios en varios continentes que poseen gran diversidad de anfibios, estudios que utilicen diferentes familias y especies, pues solo se evaluaron el 20% de familias y el 0.4% de especies del total de familias y especies existentes de la clase amphibia. Además, faltan más estudios en ambientes lóticos y terrestres, estudios que evalúen alteraciones antropogénicas de tipo físico y estudios que utilicen morfometría geométrica. Asimismo, futuros estudios deben analizar los errores de medición y también otros tipos de asimetría, para así reducir sesgos los cuales influyen negativamente en el cálculo de la FA .

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Abaga, N. O. Z., Alibert, P., Dousset, S., Savadogo, P. W., Savadogo, M. and Sedogo, M. 2011. Insecticide residues in cotton soils of Burkina Faso and effects of insecticides on fluctuating asymmetry in honey bees (*Apis mellifera* Linnaeus). *Chemosphere* 83: 585-592.

Adams, D.C., Rohlf, F.J. and Slice, D.E. 2013. A field comes of age: Geometric morphometrics in the 21st century. *Hystrix* 24: 7-14.

Almeida-Gomes, M., Valente-Neto, F. Pacheco, E. O. Ganci, C. C. Leibold, M. A. Melo, A. S. and Provete, D. B. 2020. How does the landscape affect metacommunity structure? A quantitative review for lentic environments. *Current Landscape Ecology Reports* 5: 68-75.

Allenbach, D. M. 2011. Fluctuating asymmetry and exogenous stress in fishes: a review. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 21: 355-376.

Aziz, H. A. 2017. Comparison between field research and controlled laboratory research. *Archives of Clinical and Biomedical Research* 1: 101-104.

Beebee, T. J., and Griffiths, R. A. 2005. The amphibian decline crisis: a watershed for conservation biology? *Biological Conservation* 125: 271-285.

Beasley, D. A., Bonisoli-Alquati A. and Mousseau T. A. 2013. The use of fluctuating asymmetry as a measure of environmentally induced developmental instability: A meta-analysis. *Ecological Indicators*, 30:21

Benítez, H. A. and Parra, L. E. 2011. Fluctuating asymmetry: a morpho-functional tool to measure development stability. *International Journal of Morphology*, 29:1459-1469.

Blaustein, A. R. 1990. Declining amphibian populations: a global phenomenon? *Trends in ecology and evolution* 5: 203-204.

Blaustein, A. R., and D. B. Wake. 1995. The puzzle of declining amphibian populations. *Scientific American* 272: 52-57.

Blaustein, A. R., and J. M. Kiesecker. 2002. Complexity in conservation: lessons from the global decline of amphibian populations. *Ecology letters* 5: 597-608.

Blaustein, A. R., Gervasi, S. S. Johnson, P. T. Hoverman, J. T. Belden, L. K. Bradley, P. W. and Xie, G. Y. 2012. Ecophysiology meets conservation: understanding the role of disease in amphibian population declines. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 367: 1688-1707.

Blaustein, A. R., Urbina, J. Snyder, P. W. Reynolds, E. Dang, T. Hoverman, J. T. and Hambalek, N. M. 2018. Effects of emerging infectious diseases on amphibians: a review of experimental studies. *Diversity* 10: 81.

Bridges, C. M., and Semlitsch, R. D. 2000. Variation in pesticide tolerance of tadpoles among and within species of Ranidae and patterns of amphibian decline. *Conservation Biology* 14: 1490-1499.

Brito, D. 2008. Amphibian conservation: are we on the right track? *Biological Conservation* 141: 2912-2917.

Browne, R. A. 1981. Lakes as islands: biogeographic distribution, turnover rates, and species composition in the lakes of central New York. *Journal of Biogeography* 8: 75-83.

Boone M. and James S. 2005. Mesocosmos acuáticos y terrestres en ecotoxicología de anfibios. *Herpetología aplicada* 2: 231-257

Bonada, N. Vives, S. Rieradevall, M. and Prat, N. 2005. Relationship between pollution and fluctuating asymmetry in the pollution-tolerant caddisfly *Hydropsyche exocellata* (Trichoptera, Insecta). *Archiv für hydrobiologie* 162: 167-185.

Burggren, W. W., and Warburton, S. 2007. Amphibians as animal models for laboratory research in physiology. *ILAR journal* 48: 260-269.

Castilheiro, W. F. F., Muñoz-Muñoz, F. Ventura, J. Dos Santos-Filho, M. Mathias, M. D. L. and Gabriel, S. I. 2022. Differential Impact of Forest Fragmentation on Fluctuating Asymmetry in South Amazonian Small Mammals. *Symmetry* 14: 981.

Carvalho, C. S., Utsunomiya, H. S. M. Pasquoto, T. Lima, R. Costa, M. J. and Fernandes, M. N. 2017. Blood cell responses and metallothionein in the liver,

kidney and muscles of bullfrog tadpoles, *Lithobates catesbeianus*, following exposure to different metals. *Environmental Pollution* 221: 445-452.

CBI. 2021. Data Basin. Available from: <https://databasin.org/> (accessed on 2 July 2022).

Ceballos, G., Ehrlich, P. R. Barnosky, A. D. García, A. Pringle, R. M. and Palmer, T. M. 2015. Accelerated modern human-induced species losses: entering the sixth mass extinction. *Science advances* 1: e1400253.

Chikin, Y. A. 2001. Monitoring of toad populations for homeostasis. *Proceedings of the reserves of Uzbekistan* 3: 138-146

Coda, J. A., Martínez, J. J. Steinmann, A. R. Priotto, J. W. and Gomez, M. D. 2017. Fluctuating asymmetry as an indicator of environmental stress in small mammals. *Mastozoologia Neotropical* 24:313-321.

Collins, J. P., and Storfer, A. 2003. Global amphibian declines: sorting the hypotheses. *Diversity and Distributions* 9:89-98.

Compagnucci, C., Fish, J., and Depew, M. J. 2014. Left–right asymmetry of the gnathostome skull: Its evolutionary, developmental, and functional aspects. *Genesis* 52: 515-527.

Conan, A., Jumeau, J. Dehaut, N. Enstipp, M. Georges, J. Y. and Handrich, Y. 2022. Can road stormwater ponds be successfully exploited by the European green frog (*Pelophylax sp.*)? *Urban Ecosystems* 25: 35-47.

Cordier, J. M., Aguilar, R. Lescano, J. N. Leynaud, G. C. Bonino, A. Miloch, D. Loyola, R. and Nori, J. 2021. A global assessment of amphibian and reptile responses to land-use changes. *Biological Conservation* 253:108863.

Costa, R. N., and Nomura, F. 2016. Measuring the impacts of Roundup Original on fluctuating asymmetry and mortality in a Neotropical tadpole. *Hydrobiologia* 765: 85-96

Chubinishvili, A. T. 1997. The status of natural populations of the *Rana esculenta*-complex in response to anthropogenic influences: a morphogenetic approach. *Advances in amphibian research in the former Soviet Union* 2: 117-124.

Chubinishvili, A. T. 1998. Developmental homeostasis in populations of the marsh frog (*Rana ridibunda*) living under the conditions of chemical pollution in the middle Volga region. *Russian journal of ecology* 29: 63-65.

Chubinishvili, A. T. 2001. Evaluation of developmental stability and cytogenetic homeostasis in populations of European green frogs (*Rana esculenta*-complex) under natural and anthropogenic conditions. *Russian Journal of Developmental Biology* 32: 362-366.

Crnobrnja-Isailovic, J. 2007. Cross-section of a refugium: genetic diversity of amphibian and reptile populations in the Balkans. *Phylogeography of southern European refugia*. Pp. 327-337 in: Weiss, S., Ferrand, N. (Eds.), *Phylogeography of Southern European Refugia*. Springer, Germany.

Christofoletti, C. A., Correia, J. E. Marinho, J. F. de Souza, C. P. Marcato, A. C. and Fontanetti, C. S. 2015. Lentic habitats as study models for assessing aquatic contamination. Pp. 87-108 in: Justin A. D. (Ed.), *Advances in Environmental Research*. UNESP institutional Repository, Brazil.

Davidson, C., Shaffer, H. B. and Jennings, M. R. 2002. Spatial tests of the pesticide drift, habitat destruction, UV-B, and climate-change hypotheses for California amphibian declines. *Conservation Biology* 16: 1588-1601.

Declerck, S., De Bie, T. Ercken, D. Hampel, H. Schrijvers, S. Van Wichelen, J. and Martens, K. 2006. Ecological characteristics of small farmland ponds: associations with land use practices at multiple spatial scales. *Biological conservation* 131: 523-532.

Dinerstein, E., Olson, D. Joshi, A. Vynne, C. Burgess, N. D. Wikramanayake, E., and Saleem, M. 2017. An ecoregion-based approach to protecting half the terrestrial realm. *BioScience* 67: 534-545.

Dodson, S. I., Arnott, S. E., and Cottingham, K. L. 2000. The relationship in lake communities between primary productivity and species richness. *Ecology* 81: 2662-2679.

Dongen, S. V. 1999. Accuracy and power in fluctuating asymmetry studies: effects of sample size and number of within-subject repeats. *Journal of Evolutionary Biology* 12: 547-550.

Dongen, S. V. 2006. Fluctuating asymmetry and developmental instability in evolutionary biology: past, present and future. *Journal of evolutionary biology* 19:1727-1743.

Duarte-Guterman, P., Navarro-Martín, L. and Trudeau, V. L. 2014. Mechanisms of crosstalk between endocrine systems: regulation of sex steroid hormone synthesis and action by thyroid hormones. *General and Comparative Endocrinology* 203: 69-85.

Džukić, G., Beškov, V. Sidorovska, V. and Kalezić, L. 2005. Historical and contemporary ranges of the spadefoot toads *Pelobates spp.* (Amphibia: Anura) in the Balkan Peninsula. *Acta Zoologica Cracoviensia* 48: 1-9.

Eastwood, W. J. 2004. East Mediterranean vegetation and climate change. Pp. 25-48 in Griffiths, H.I., Kryštufek, B., Reed, J.M. (Eds). *Balkan biodiversity*. Springer, Germany.

Earl, J. E. and Whiteman, H. H. 2009. Effects of pulsed nitrate exposure on amphibian development. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 28: 1331-1337.

Egea-Serrano, A., Relyea, R. A. Tejedo, M. and Torralva, M. 2012. Understanding of the impact of chemicals on amphibians: a meta-analytic review. *Ecology and Evolution* 2:1382-1397.

Eterovick, P. C., De Queiroz Carnaval, A. C. O. Borges-Nojosa, D. M. Silvano, D. L., Segalla, M. V. and Sazima, I. 2005. Amphibian declines in Brazil: an overview 1. *Biotropica: The Journal of Biology and Conservation* 37: 166-179.

Eterovick, P. C., Bar, L. F. Souza, J. B. Castro, J. F. Leite, F. S. and Alford, R. A. 2015. Testing the relationship between human occupancy in the landscape and tadpole developmental stress. *PLoS One* 10: e0120172.

Eterovick, P. C., Sloss, B. L. Scalzo, J. A. and Alford, R. A. 2016. Isolated frogs in a crowded world: Effects of human-caused habitat loss on frog heterozygosity and fluctuating asymmetry. *Biological Conservation* 195: 52-59.

Fan, W., Yanase, T. Morinaga, H. Gondo, S. Okabe, T. Nomura, M. Komatsu, T. Morohashi, K. Hayes, Takayanagi, T. et al. 2007. Atrazine-induced aromatase

expression is SF-1 dependent: implications for endocrine disruption in wildlife and reproductive cancers in humans. *Environmental health perspectives* 115: 720-727.

Floate, K. D. and Coghlin P. C. 2010. No support for fluctuating asymmetry as a biomarker of chemical residues in livestock dung. *The Canadian Entomologist* 142: 354–368.

Frost, D. R. 2021. Amphibian Species of the World: An Online Reference. Version 6.1. Electronic Database accessible at <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA.

Fuller, R.C., and Houle, D. 2002. Detecting genetic variation in developmental instability by artificial selection on fluctuating asymmetry. *Journal of Evolutionary Biology* 15:954–960.

Geffard, O., Budzinski, H. and His, E. 2002. The effects of elutriates from PAH and heavy metal polluted sediments on *Crassostrea gigas* (Thunberg) embryogenesis, larval growth and bioaccumulation by the larvae of pollutants from sedimentary origin. *Ecotoxicology* 11: 403–416.

Gibbons, J. W. 2003. Terrestrial habitat: a vital component for herpetofauna of isolated wetlands. *Wetlands* 23: 630-635.

Gondim, P. D. M., Rodrigues, J. F. M. and Cascon, P. 2020. Fluctuating asymmetry and organosomatic indices in anuran populations in agricultural environments in semi-arid Brazil. *Herpetological Conservation and Biology* 15: 354-366.

Graham, J.H., Emlen, J.M. Freeman, D.C. Leamy, L.J. Kieser, J.A. 1998. Directional asymmetry and the measurement of developmental stability. *Biological Journal of the Linnean Society* 64:1–16.

Graham, J. H. Raz, S. Hel-Or, H. and Nevo, E. 2010. Fluctuating asymmetry: methods, theory, and applications. *Symmetry* 2: 466-540.

Griffiths, H. I., Kryštufek, B. and Reed, J. M. 2004. Late Pleistocene rodent dispersal in the Balkans. Pp. 135-145 in Griffiths, H.I., Kryštufek, B., Reed, J.M. (Eds). *Balkan biodiversity*. Springer, Germany.

Guo, R., Zhang, W., Ai, S. Ren, L. and Zhang, Y. 2017. Fluctuating asymmetry rather than oxidative stress in *Bufo raddei* can be an accurate indicator of environmental pollution induced by heavy metals. *Environmental monitoring and assessment* 189: 1-10.

Gusenbauer, M. 2019. Google Scholar to overshadow them all? Comparing the sizes of 12 academic search engines and bibliographic databases. *Scientometrics* 118: 177–214.

Habel, J. C., Drees, C. Schmitt, T. and Assmann, T. 2010. Review refugial areas and postglacial colonizations in the western Palearctic. Pp. 189-197 in Habel, J.C., Assmann, T. (Eds). *Relict species*. Springer, Berlin.

Habel, J. C., Dengler, J. Janišová, M. Török, P. Wellstein, C. and Wiezik, M. 2013. European grassland ecosystems: threatened hotspots of biodiversity. *Biodiversity and Conservation* 22: 2131-2138.

Haddad, C. F. and Prado, C. P. 2005. Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic Forest of Brazil. *BioScience* 55: 207-217.

Haines, L. L., Light, J. O'Malley, D. and Delwiche, F. A. 2010. Information-seeking behavior of basic science researchers: Implications for library services. *Journal of the Medical Library Association* 98: 73–81.

Hansson, L. A., Annadotter, H. Bergman, E. Hamrin, S. F. Jeppessen, E. Kairesalo, T. Luokkanen, E. Nilsson, P. Å. Søndergaard, M. and Strand, J. 1998. Biomanipulation as an application of food chain theory: constraints, synthesis and recommendations for temperate lakes. *Ecosystems* 1: 558–574

Harfoot, M.B.J., Johnston, A. Balmford, A. Burgess, N. D. Butchart, S. H. M. Dias, M. P. Hazin, C. Hilton-Taylor, C. Hoffmann, M. Isaac, N. J. B. et al. 2021. Using the IUCN Red List to map threats to terrestrial vertebrates at global scale. *Nature Ecology & Evolution* 5:1510–1519.

- Hayes, T. B., Khoury, V. Narayan, A. Nazir, M. Park, A. Brown, T. and Stueve, T. 2010. Atrazine induces complete feminization and chemical castration in male African clawed frogs (*Xenopus laevis*). *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107: 4612–4617.
- Hayes, T. B., Anderson, L. L. Beasley, V. R. De Solla, S. R. Iguchi, T. Ingraham, H., Kestemont, P. Kniewald, J. Kniewald, Z. Langlois, V. et al. 2011. Demasculinization and feminization of male gonads by atrazine: consistent effects across vertebrate classes. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 127: 64-73.
- Herring, G., Eagles-Smith, C. A. and Ackerman, J. T. 2017. Mercury exposure may influence fluctuating asymmetry in waterbirds. *Environmental toxicology and chemistry* 36: 1599-1605.
- Hewitt, G. M. 2011. Mediterranean peninsulas: the evolution of hotspots. Pp. 123-147 in Zachos, F., Habel, J. (Eds). *Biodiversity hotspots*. Springer, Berlin.
- Hopkins, W. A. 2007. Amphibians as Models for Studying Environmental Change. *ILAR Journal* 48:270–277.
- Hortal, J., Nabout, J. C. Calatayud, J. Carneiro, F. M. Padial, A. Santos, A. Siqueira, T. Bokma, F. Mauricio, B. and Ventura, M. 2014. Perspectives on the use of lakes and ponds as model systems for macroecological research. *Journal of limnology* 73:46-60.
- Hoffmann, A. A. and Woods, R. E. 2003. Associating environmental stress with developmental stability: Problems and patterns. *Developmental instability: Causes and consequences* 387-401
- IUCN. 2022. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2022-1. Available at <https://www.iucnredlist.org>
- Karvonen, E. Merilä, J. Rintamäki, P. T. and Van Dongen, S. 2003. Geography of fluctuating asymmetry in the greenfinch, *Carduelis chloris*. *Oikos* 100: 507-516.

Khattab, N., Saber, S. El-Salkh, B. and Said, R. 2021. The Efficiency of *Sclerophrys regularis* as a bioindicator. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, B. Zoology* 13:91-101.

Klingenberg, C. P. and McIntyre, G. S. 1998. Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods. *Evolution* 52: 1363-1375.

Klingenberg, C.P., Barluenga, M. and Meyer, A. 2002. Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation individuals and asymmetry. *Evolution* 56:1909-1920.

Klingenberg, C. P. 2003. A developmental perspective on developmental instability: theory, models, and mechanisms. *Developmental Instability: Causes and Consequences* 1:14-34.

Klingenberg, C. P. and Polak, M. 2003. Developmental instability as a research tool: using patterns of fluctuating asymmetry to infer the developmental origins of morphological integration. Pp. 427-442 in M. Polak (Ed.), *Developmental Stability: Causes and Consequences*. Oxford University Press, United Kingdom.

Klingenberg C.P. 2015. Analyzing Fluctuating Asymmetry with Geometric Morphometrics: Concepts, Methods, and Applications. *Symmetry* 2015:843-934

Lada, G. A., Lyovin, A. N. Artyomova, L. V. and R, N. S. 2012. On the evaluation of environmental condition by the level of fluctuating asymmetry in anuran amphibian of lake frog (*Rana ridibunda*) as an example. *Principles of the Ecology* 1:72-78.

Lajus, D.L. 2001. Variation patterns of bilateral characters: variation among characters and among populations in the White Sea herring, *Clupea pallasii marisalbi* (Berg) (Clupeidae, Teleosti). *Biological Journal of the Linnean Society* 74: 237-253.

Lajus, D., Arshavsky, D. and Yurtseva, A. 2014. Radioactive contamination causes only a minor effect on the fluctuating asymmetry of two fish species from the Chernobyl area. *Journal of Applied Ichthyology* 30: 740-745.

Lajus, D. L., Golovin, P. V. Yurtseva, A. O. Ivanova, T. S. Dorgham, A. S. and Ivanov, M. V. 2019. Fluctuating asymmetry as an indicator of stress and fitness in stickleback: a review of the literature and examination of cranial structures. *Evolutionary Ecology Research* 20: 83-106.

Lamberti, G. A., Chaloner, D. T. and Hershey, A. E. 2010. Linkages among aquatic ecosystems. *Journal of the North American Benthological Society* 29: 245-263.

Leary, R. F. and Allendorf, F. W. 1989. Fluctuating asymmetry as an indicator of stress: implications for conservation biology. *Trends in Ecology & Evolution* 4: 214-217.

Lemon, J. 2006. Plotrix: a package in the red light district of R. *R-news* 6: 8-12.

Lens, L. U. C., Van Dongen, S. Kark, S. and Matthysen, E. 2002. Fluctuating asymmetry as an indicator of fitness: can we bridge the gap between studies? *Biological reviews* 77: 27-38.

Lens, L. and Eggermont, H. 2008. Fluctuating asymmetry as a putative marker of human-induced stress in avian conservation. *Bird Conservation International* 18: 125-143.

Leung, B., Forbes, M. R. and Houle, D. 2000. Fluctuating asymmetry as a bioindicator of stress: comparing efficacy of analyses involving multiple traits. *The American Naturalist* 155: 101-115.

Levin, A. N., Artemova, L. V. and Rybkina, N. S. 2012. On the assessment of the state of the environment by the level of fluctuating asymmetry in tailless amphibians on the example of the lake frog (*Rana ridibunda*). *Principles of Ecology* 3: 82-88.

MacArthur, R. H. and Wilson, E. O. 2016. The theory of island biogeography. Princeton university press, USA.

Márquez, R. and Bosch, J. 2000. Tympanum fluctuating asymmetry, body size and mate choice in female midwife toads (*Alytes obstetricans*). *Behaviour* 137: 1211-1222.

- Meester, L. D. and Declerck, S. 2005. The study of biodiversity in freshwater habitats: societal relevance and suggestions for priorities in science policy. Pp. 1-9 in Segers, H., Martens, K. (Eds). *Aquatic Biodiversity II*. Springer, Germany.
- McCoy, K. A. and Harris, R. N. 2003. Integrating developmental stability analysis and current amphibian monitoring techniques: an experimental evaluation with the salamander *Ambystoma maculatum*. *Herpetologica* 59: 22-36.
- Michán, L. and Muñoz-Velasco, I. 2013. Cienciometría para ciencias médicas: definiciones, aplicaciones y perspectivas. *Investigación en Educación Médica* 2:100-106.
- Miró O., Valcárcel, M. A. Cremades, R. M. Burillo-Putze, G. Julián, A. and Martín-Sánchez, F. J. 2012. Producción científica de los urgenciólogos españoles durante el quinquenio 2005-2009 y comparación con el quinquenio 2000-2004. *Emergencias* 24:164-174.
- Mirzaei, R., Yunesian, M. Nasser, S. Gholami, M. Jalilzadeh, E. Shoeibi, S. and Mesdaghinia, A. 2017. An optimized SPE-LC-MS/MS method for antibiotics residue analysis in ground, surface and treated water samples by response surface methodology-central composite design. *Journal of Environmental Health Science and Engineering* 15: 1-16.
- Mittermeier, R. A., Turner, W. R. Larsen, F. W. Brooks, T. M. and Gascon, C. 2011. Global biodiversity conservation: the critical role of hotspots. Pp. 3-22 in Zachos, F., Habel, J. (Eds). *Biodiversity hotspots*. Springer, Berlin.
- Mogie, M. and Cousins, M. 2001. Are sample sizes usually at least an order of magnitude too low for reliable estimates of leaf asymmetry? *Journal of Theoretical Biology* 211: 181-185
- Montalvão, M. F., Da Silva Castro, A. L. De Lima Rodrigues, A. S. De Oliveira Mendes, B. and Malafaia, G. 2018. Impacts of tannery effluent on development and morphological characters in a neotropical tadpole. *Science of the Total Environment* 610: 1595-1606.
- Nakano, S. and Murakami, M. 2001. Reciprocal subsidies: dynamic interdependence between terrestrial and aquatic food webs. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98: 166-170.

- Niemeier, S., Mueller, J. and Roedel, M. O. 2019. Fluctuating asymmetry-appearances are deceptive. Comparison of methods for assessing developmental instability in European common frogs (*Rana temporaria*). *Salamandra* 55: 14-26.
- Nikashin, I. A. 2005. Assessment of the developmental stability of the Voronezh River in the marsh frog. *Problems Natural Sciences* 13: 24-26.
- Olson, D. M., Dinerstein, E. Wikramanayake, E. D. Burgess, N. D. Powell, G. V. Underwood, E. C. D'amico, J. A. Itoua, I. Strand, H. Morrison, J. et al. 2001. Terrestrial Ecoregions of the World: A New Map of Life on Earth A new global map of terrestrial ecoregions provides an innovative tool for conserving biodiversity. *BioScience* 51: 933-938.
- Parsons, P. A. 1990. Fluctuating asymmetry: an epigenetic measure of stress. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 65: 131-145.
- Parsons, P. 1992. Fluctuating asymmetry: a biological monitor of environmental and genomic stress. *Heredity* 68: 361–364.
- Palmer, A. R. and Strobeck, C. 1986. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17:391-421.
- Palmer, A. R. and Strobeck, C. 1992. Fluctuating asymmetry as a measure of developmental stability: implications of non-normal distributions and power of statistical tests. *Acta Zoologica Fennica* 191:13.
- Palmer, A. R. 1994. Fluctuating asymmetry analyses: a primer. *Developmental instability: its origins and evolutionary implications* 2:335-364.
- Palmer, A. R. and Strobeck, C. 2003. CH 17. Fluctuating asymmetry analyses revisited. Pp. 279-319 in Michal P. (Ed). *Developmental Instability: Causes and Consequences*. Oxford University Press, United Kingdom.
- Palmer, A. R. 2016. What determines direction of asymmetry: genes, environment or chance?. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 371: 20150417.
- Parris, M. J. and Cornelius, T. O. 2004. Fungal pathogen causes competitive and developmental stress in larval amphibian communities. *Ecology* 85: 3385-3395.

- Pellet, J., Fleishman, E. Dobkin, D. S. Gander, A. and Murphy, D. D. 2007. An empirical evaluation of the area and isolation paradigm of metapopulation dynamics. *Biological Conservation* 136: 483-495.
- Peskova, T. Y. and Zhukova, T. I. 2007. The usage of amphibians for bio-indication of water pollution. *Science Kuban* 2: 22-25.
- Peskova, T. Y., Zhukova, T. I. and Velichko, T. S. 2011. Fluctuating asymmetry of marsh frog and green toad. Pp. 219-223 in Ananjeva N. B. (Ed.). *Problems of Herpetology: Proceedings of the 4th Meeting of the Nikolsky Herpetological Society*. Russian Collection publishing Saint-Petersburg, Russia.
- Petrov, B. P. 2007. Amphibians and reptiles of Bulgaria: fauna, vertical distribution, zoogeography, and conservation. Pp. 85-107 in Fet, V., Popov, A. (Eds). *Biogeography and Ecology of Bulgaria*. Springer, Germany.
- Pimm, S. L., Russell, G. J. Gittleman, J. L. and Brooks, T. M. 1995. The future of biodiversity. *Science* 269:347-350.
- Pinelli, C., Santillo, A. Chieffi Baccari, G. Falvo, S. and Di Fiore, M. M. 2019. Effects of chemical pollutants on reproductive and developmental processes in Italian amphibians. *Molecular Reproduction and Development* 86:1324-1332.
- Rech, F., Narimanov, N. Bauer, T. and Schirmel, J. 2022. Urbanization increases fluctuating asymmetry and affects behavioral traits of a common grasshopper. *Ecology and Evolution* 12: e9658.
- Ribera, I., Barraclough, T. and Vogler, A. 2001. The effect of habitat type on speciation rates and range movements in aquatic beetles: inferences from species-level phylogenies. *Molecular Ecology* 10: 721–735.
- R Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Retrieved from: <http://www.R-project.org/>
- Romero, A. N. and C. E. Terhune. 2018. A comparison of fluctuating asymmetry models in non-human primate crania. *American Journal of Physical Anthropology* 165: 230.

- Saber, S., Tito, W. Said, R. Mengistou, S. and Alqahtani, A. 2017. Amphibians as bioindicators of the health of some wetlands in Ethiopia. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine* 66: 66-73.
- Samojeden, C. G., Pavan, F. A. Rutkoski, C. F. Folador, A. Da Fré, S. P. Müller, C. and Hartmann, M. 2022. Toxicity and genotoxicity of imidacloprid in the tadpoles of *Leptodactylus luctator* and *Physalaemus cuvieri* (Anura: Leptodactylidae). *Scientific Reports* 12: 11926.
- Sánchez, G., RL, Arzuaga, A. Arias, F. and Atencio, P. 2016. Caracterización cuantitativa de la producción científica de Medwave, 2010-2014. *Medwave* 16: 6538.
- Sandner, T. M. and Matthies, D. 2017. Fluctuating asymmetry of leaves is a poor indicator of environmental stress and genetic stress by inbreeding in *Silene vulgaris*. *Ecological Indicators* 79: 247-253.
- Sanseverino, A. M. and Messimian, J. L. 2008. Assimetria flutuante em organismos aquáticos e sua aplicação para avaliação de impactos ambientais. *Oecologia Brasiliensis* 12:382-405.
- Savriama, Y. and Klingenberg, C. P. 2011. Beyond bilateral symmetry: geometric morphometric methods for any type of symmetry. *BMC evolutionary biology* 11:1-24.
- Schmitt, T. 2007. Molecular biogeography of Europe: Pleistocene cycles and postglacial trends. *Frontiers in zoology* 4: 1-13.
- Semlitsch, R. D., Walls, S. C. Barichivich, W. J. and O'Donnell, K. M. 2017. Extinction debt as a driver of amphibian declines: an example with imperiled flatwoods salamanders. *Journal of Herpetology* 51:12-18.
- Sheehan, M. J. and Tibbetts, E. A. 2011. Condition dependence and the origins of elevated fluctuating asymmetry in quality signals. *Behavioral ecology* 22: 1166-1172.
- Şişman, T., Keskin, M. Ç. Dane, H. Adil, Ş. Geyikoğlu, F. Çolak, S. and Canpolat, E. 2021. Marsh frog (*Pelophylax ridibundus*) as a bioindicator to assess pollution in an agricultural area. *Pakistan Journal of Zoology* 53: 337-349.

- Söderman, F., Van Dongen, S. Pakkasmaa, S. and Merilä, J. 2007. Environmental stress increases skeletal fluctuating asymmetry in the moor frog *Rana arvalis*. *Oecologia* 151: 593-604.
- Soule, M. 1967. Phenetics of natural populations. II. Asymmetry and evolution in a lizard. *The American Naturalist* 101: 141-160.
- South, A. 2011. rworldmap: A new R package for mapping global data. *R Journal* 3.
- Sparling, D. W., Linder, G. Bishop, C. A. and Krest, S. 2010. Ecotoxicology of amphibians and reptiles. CRC Press, USA.
- Spirina, E. V. 2009. Morphological abnormalities *Rana ridibunda* Pall. As indicators of environmental quality. *Proceedings of OSU* 1: 228-230.
- Spolyarich, N., Hyne, R. V. Wilson, S. P. Palmer, C. G. and Byrne, M. 2011. Morphological abnormalities in frogs from a ricegrowing region in NSW, Australia, with investigations into pesticide exposure. *Environmental Monitoring and Assessment* 173: 397–407.
- Stuart, S. N., Chanson, J. S. Cox, N. A. Young, B. E., Rodrigues, A. S. Fischman, D. L. and Waller, R. W. 2004. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science* 306: 1783-1786.
- Thompson, K., Askew, A. P. Grime, J. P. Dunnett, N. P. and Willis, A. J. 2005. Biodiversity, ecosystem function and plant traits in mature and immature plant communities. *Functional Ecology*, 19(2), 355-358.
- Trapp, M., Deubert, M. Streib, L. Scholz-Starke, B. Roß-Nickoll, M. and Toschki, A. 2020. Simulating the effects of agrochemicals and other risk-bearing management measures on the terrestrial agrobiodiversity: the RISKMIN approach. Pp. 443-459 in Mirschel, W., Terleev, V., Wenkel, K. O. (Eds). In *Landscape Modelling and Decision Support*. Springer, Germany.
- Valeeva, G. R. and Karpov, M. V. 2017. Assessment of the environmental quality and its changes using indicators of asymmetry in vertebrates. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences* 4: 3720-3726.
- Van Valen, L. 1962. A study of fluctuating asymmetry. *Evolution* 16:25-142.

- Van Dongen, S. 2006. Fluctuating asymmetry and developmental instability in evolutionary biology: past, present and future. *Journal of evolutionary biology* 19: 1727-1743.
- Vanryckeghem, F., Huysman, S. Van Langenhove, H. Vanhaecke, L. and Demeestere, K. 2019. Multi-residue quantification and screening of emerging organic micropollutants in the Belgian Part of the North Sea by use of Speedisk extraction and Q-Orbitrap HRMS. *Marine pollution bulletin* 142: 350-360.
- Vanti, N. A. P. 2002. Da bibliometria à webometria: uma exploração conceitual dos mecanismos utilizados para medir o registro da informação e a difusão do conhecimento. *Ciência da informação* 31: 369-379.
- Vasilev, A. G. and Vasileva, I. A. 2009. Phegogenetic monitoring of plant and animal impact populations under anthropogenic environment press. *Bulletins Belgorod University* 3: 1-12.
- Vershinin, V. L. Gileva, E. A., and Glotov, N. V. 2007. Fluctuating asymmetry of measurable parameters in *Rana arvalis*: methodology. *Russian Journal of Ecology* 38: 72-74.
- Wake, D. B. 1991. Declining amphibian populations. *Science* 253:860-861.
- Wake, D. B. and V. T. Vredenburg. 2008. Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105:11466-11473.
- Wellborn, G. A., Skelly, D. K. and Werner, E. E. 1996. Mechanisms creating community structure across a freshwater habitat gradient. *Annual review of ecology and systematics* 27: 337-363.
- Wiens, J. J., Sukumaran, J. Pyron, R. A. and Brown, R. M. 2009. Evolutionary and biogeographic origins of high tropical diversity in Old World frogs (Ranidae). *Evolution: International Journal of Organic Evolution* 63: 1217-1231.
- Wickham, H., Chang, W. and Wickham, M. H. 2016. Package 'ggplot2'. *Create elegant data visualisations using the grammar of graphics. Version 2*: 1-189.
- Wickham, H. Averick, M. Bryan, J. Chang, W. McGowan, L. D. François, R. et al. 2022. Welcome to the tidyverse. *J Open Source Softw* 4: 1686.

- Williams, P., Whitfield, M. Biggs, J. Bray, S. Fox, G. Nicolet, P. and Sear, D. 2004. Comparative biodiversity of rivers, streams, ditches and ponds in an agricultural landscape in Southern England. *Biological conservation* 115: 329-341.
- Wilson, E. O. and MacArthur, R. H. 1967. The theory of island biogeography. Princeton University Press, USA.
- Young, B. E., Stuart, S. N. Chanson, J. S. Cox, N. A. and Boucher, T. M. 2005. Disappearing jewels: the status of new world amphibians. *Applied Herpetology* 2: 429-435.
- Zakharov V. M., Baranov, A. S. and Borisov, V. I. 2000. Environmental Health: a methodology for evaluation. Moscow, Russia.
- Zakharov, V. M., Shadrina, E. G. and Trofimov, I. E. 2020. Fluctuating Asymmetry, Developmental Noise and Developmental Stability: Future Prospects for the Population. *Developmental Biology Approach. Symmetry* 12:1376.
- Zelditch, M. L., Wood, A. R. and Swiderski, D. L. 2009. Building developmental integration into functional systems: function-induced integration of mandibular shape. *Evolutionary Biology* 36:71-87.
- Zhelev, Z. M., Popgeorgiev, G. S. and Georgieva, Z. K. 2014. Fluctuating asymmetry in the populations of *Pelophylax ridibundus* and *Pseudepidalea viridis* (Amphibia: Anura) in the region of the lead and zinc plant “Kardzhali” (South Bulgaria). *Acta Zoologica Bulgarica* 66: 83-87.
- Zhelev, Z. M., Tsonev, S. V. and Arnaudova, D. N. 2017. Health status of *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) (Amphibia: Ranidae) in a rice paddy ecosystem in southern Bulgaria: body condition factor and fluctuating asymmetry. *Acta Zoologica Bulgarica* 8: 169-176.
- Zhelev, Z., Tsonev, S., Georgieva, K. and Arnaudova, D. 2018. Health status of *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Ranidae) in a rice paddy ecosystem in Southern Bulgaria and its importance in assessing environmental state: haematological parameters. *Environmental Science and Pollution Research* 25: 7884-7895.

Zhelev, Z. M., Tsonev, S. V. and Angelov, M. V. 2019. Fluctuating asymmetry in *Pelophylax ridibundus* meristic morphological traits and their importance in assessing environmental health. *Ecological Indicators* 107: 105589.

Zhelev, Z., Mollov, I. and Tsonev, S. 2021. Fluctuating asymmetry in meristic morphological traits of *Bufo viridis* (Laurenti, 1768) (Anura: Bufonidae): Application for assessing environmental quality of two semi-natural habitats in Plovdiv city, Bulgaria. *Acta Zoologica Bulgarica* 73: 401-407.

Zhelev, Z., Tsonev, S. and Boyadzhiev, P. 2022. Using of fluctuating asymmetry in adult *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Anura: Ranidae) meristic traits as a method for assessing developmental stability of population and environmental quality of their habitat: industrial area in southern Bulgaria. *Turkish Journal of Zoology* 46: 220-227.

Zverev, V., Lama, A. D. and Kozlov, M. V. 2018. Fluctuating asymmetry of birch leaves did not increase with pollution and drought stress in a controlled experiment. *Ecological indicators* 84: 283-289.

APÉNDICE**Tabla A1.** Estudios sobre el efecto del estrés ambiental en la asimetría fluctuante incluidos en la revisión: especie de anfibio, estresor, tipo de alteración, efecto de FA, tipo de rasgo medido, número de rasgos, tipo de estudio, total de individuos y referencia.

Referencia	Especies	Estresor	tipo de alteración	Efecto	Medición de rasgos	N° de rasgos	Tipo de estudio	Total de individuos
Antonin et al. (2021)	<i>Pelophylax sp.</i>	construcción y urbanismo uso agropastoral	físico físico	No existe	métrico	2	campo	709
Burghilea et al. (2009)	<i>Pelophylax perezi</i>	agroquímicos	químico	Existe	métrico	3	campo	562
Burghilea et al. (2013)	<i>Pelophylax perezi</i>	agroquímicos	químico	Existe	métrico	4	campo	562
Chubinishvili (2001)	<i>Pelophylax ridibundus</i>	residuos domésticos/industriales agroquímicos radiación	químico químico químico	Existe	merístico	13	campo	228
Costa et al. (2016)	<i>Physalaemus cuvieri</i>	agroquímicos	químico	Existe	métrico	5	laboratorio	60
Costa et al. (2017)	<i>Physalaemus cuvieri</i> <i>Scinax fuscomarginatus</i>	uso agropastoral	físico	Existe	métrico	4	campo	144
Delgado-Acevedo and Restrepo (2008)	<i>Eleutherodactylus antillensis</i>	uso agropastoral	físico	Existe	métrico	3	campo	108
Donmez et al. (2021)	<i>Eleutherodactylus coqui</i> <i>Pelophylax ridibundus</i>	agroquímicos residuos domésticos/industriales	químico químico	Existe	merístico	10	campo	NA
Earl and Whiteman (2009)	<i>Anaxyrus americanus</i> <i>Dryophytes chrysozelis</i>	agroquímicos	químico	No existe	métrico	5	laboratorio	364

Tabla A1 (continua)

Referencia	Especies	Estresor	Tipo de alteración	Efecto	Medición de rasgos	Nº de rasgos	Tipo de estudio	Total de individuos
Earl and Whiteman (2010)	<i>Hyla chrysoscelis</i>	agroquímicos	químico	Existe	métrico	2	laboratorio	200
Eisemberg and Bertoluci (2016)	<i>Physalaemus cuvieri</i>	residuos domésticos/industriales	químico	Existe	métrico	4	campo	123
Eterovick et al. (2015)	<i>Bokermannohyla saxicola</i>	agroquímicos	químico	No existe	métrico	3	campo	249
		deforestación	físico					
		construcción y urbanismo	físico					
Eterovick et al. (2016)	<i>Bokermannohyla saxicola</i>	agroquímicos	químico	no existe	métrico	4	campo	218
		deforestación	físico					
		construcción y urbanismo	físico					
Gallant and Teather (2001)	<i>Lithobates pipiens</i>	agroquímicos	químico	Existe	métrico	8	campo	150
Gondim et al. (2020)	<i>Leptodactylus macrosternum</i>	uso agropastoral	físico	no existe	métrico	5	campo	240
	<i>Scinax x-signatus</i>							
Guillot et al. (2016)	<i>Bufo bufo</i>	uso agropastoral	físico	Existe	métrico	2	campo	NA
Guo et al. (2017)	<i>Strauchbufo raddei</i>	metales pesados	químico	Existe	merístico	4	campo	275
Khattab (2021)	<i>Sclerophrys regularis</i>	metales pesados	químico	Existe	métrico	2	campo	120
Lauck et al. (2006)	<i>Crinia signifera</i>	deforestación	físico	Existe	métrico	6	campo	NA
Levin et al. (2012)	<i>Pelophylax ridibundus</i>	construcción y urbanismo	físico	Existe	merístico	11	campo	854
		residuos domésticos/industriales	químico					

Tabla A1 (continua)

Referencia	Especies	Estresor	Tipo de alteración	Efecto	Medición de rasgos	N° de rasgos	Tipo de estudio	Total de individuos
Matías-Ferrer and Escalante (2015)	<i>Agalychnis callidryas</i>	uso agropastoral	físico	no existe	métrico	2	campo	110
	<i>Dendropsophus ebraccatus</i>	construcción y urbanismo	físico					
McCoy and Harris (2003)	<i>Ambystoma maculatum</i>	áreas ácidas	químico	Existe	métrico	2	laboratorio	180
Montalvão et al. (2018)	<i>Physalaemus cuvieri</i>	residuos domésticos/industriales	químico	Existe	métrico	4	laboratorio	211
Niemeier et al. (2020)	<i>Rana temporaria</i>	construcción y urbanismo	físico	Existe	métrico	4	campo	124
		uso agropastoral	físico				campo	
Pyke (2008)	<i>Limnodynastes peronii</i>	residuos domésticos/industriales	químico	Existe	métrico	1	campo	521
Reeves et al. (2016)	<i>Lithobates pipiens</i>	agroquímicos	químico	Existe	métrico	1	campo	NA
Saber et al. (2016)	<i>Sclerophrys regularis</i>	agroquímicos	químico	Existe	métrico	2	laboratorio	160
Saber et al. (2017)	<i>Sclerophrys xeros</i>	construcción y urbanismo	físico	Existe	métrico	2	campo	251
	<i>Tomopterna cryptotis</i>							
	<i>Sclerophrys regularis</i>							
	<i>Ptychadena nilotica</i>							
	<i>Sclerophrys dodsoni</i>							
	<i>Sclerophrys xeros</i>							
	<i>Sclerophrys blanfordii</i>							
	<i>Ptychadena anchietae</i>							

Tabla A1 (continua)

Referencia	Especies	Estresor	Tipo de alteración	Efecto	Medición de rasgos	N° de rasgos	Tipo de estudio	Total de individuos
Sasaki et al. (2016)	<i>Lithobates clamitans</i>	metales pesados	químico	No existe	métrico	1	campo	283
	<i>Lithobates pipiens</i>							
	<i>Lithobates septentrionalis</i>							
Sievers (2017)	<i>Crinia signifera</i>	construcción y urbanismo	físico	Existe	métrico	2	campo	19
	<i>Litoria ewingii</i>	metales pesados	químico					
	<i>Limnodynastes peronii</i>							
Söderman et al. (2007)	<i>Rana arvalis</i>	áreas ácidas	químico	Existe	métrico	5	campo	237
Valeeva and Karpov (2017)	<i>Pelophylax ridibundus</i>	construcción y urbanismo	físico	Existe	merístico	13	campo	90
Vershinin et al. (2007)	<i>Rana arvalis</i>	construcción y urbanismo	físico	Existe	métrico	7	campo	41
Wright and Zamudio (2002)	<i>Ambystoma maculatum</i>	agroquímicos	químico	Existe	métrico	1	campo	219
Zakharov et al. (2017)	<i>Pelophylax ridibundus</i>	agroquímicos	químico	Existe	merístico	13	campo	NA
		residuos domésticos/industriales	químico				campo	
		radiación	químico				campo	
Zhang et al. (2018)	<i>Strauchbufo raddei</i>	metales pesados	químico	Existe	merístico	8	campo	172
Zhelev et al. (2011)	<i>Pelophylax ridibundus</i>	agroquímicos	químico	Existe	merístico	13	campo	194
	<i>Bombina bombina</i>							

Tabla A1(Continua)

Referencia	Especies	Estresor	Tipo de alteración	Efecto	Medición de rasgos	N° de rasgos	Tipo de estudio	Total de individuos
Zhelev et al. (2013)	<i>Pelophylax ridibundus</i>	residuos domésticos/industriales	químico	Existe	merístico	10	campo	411
Zhelev et al. (2014)	<i>Pelophylax ridibundus</i>	metales pesados	químico	Existe	merístico	10	campo	193
	<i>Bufo viridis</i>							
Zhelev et al. (2015)	<i>Pelophylax ridibundus</i>	residuos domésticos/industriales	químico	Existe	merístico	10	campo	411
Zhelev et al. (2015)	<i>Pelophylax ridibundus</i>	residuos domésticos/industriales	químico	Existe	merístico	10	campo	919
		metales pesados	químico					
Zhelev et al. (2017)	<i>Pelophylax ridibundus</i>	agroquímicos	químico	Existe	merístico	10	campo	100
Zhelev et al. (2018)	<i>Pelophylax ridibundus</i>	agroquímicos	químico	Existe	merístico	10	campo	100
Zhelev et al. (2019)	<i>Pelophylax ridibundus</i>	residuos domésticos/industriales	químico	Existe	merístico	10	campo	300
Zhelev et al. (2021)	<i>Bufo viridis</i>	construcción y urbanismo	físico	No existe	merístico	11	campo	120
Zhelev et al. (2022)	<i>Pelophylax ridibundus</i>	residuos domésticos/industriales	químico	Existe	merístico	10	campo	162

Tabla A2. Relación entre variables categóricas y la presencia de asimetría fluctuante analizada con la prueba de Chi-cuadrado

	N° de artículos		p-valor
	Presencia AF	Ausencia AF	
Tipo de medida:			
Métrico	20	9	0.024
Merístico	18	0	
Tipo de estudio:			
Campo	34	7	0.697
Laboratorio	4	2	
Tipo de alteración antropogénica:			
Química	24	3	0.193
Física	7	2	
Química y física	7	4	
Tipo de ambiente:			
Lénticos	19	6	0.389
Lóticos	9	3	
Terrestres	2	0	
2 o más ambientes	8	0	
Tipo de estadio:			
Adultos	24	4	0.382
Juveniles	2	1	
Renacuajos	3	2	
Juveniles y adultos	4	2	
NA	5	0	

REFERENCIAS USADAS

- Burghilea, C. I., Zaharescu, D. and Palanca, A. 2009. Amphibian asymmetry, a useful tool to assess environmental quality. *International Journal of Environmental Quality* 1: 51-56.
- Burghilea, C., Zaharescu, D. and Palanca, A. 2013. Phenotypic indicators of developmental instability in an endemic amphibian from an altered landscape (Monegros, NE Spain). *Amphibia-Reptilia* 34: 505-516.
- Chubinishvili, A. T. 2001. Evaluation of developmental stability and cytogenetic homeostasis in populations of European green frogs (*Rana esculenta*-complex) under natural and anthropogenic conditions. *Russian Journal of Developmental Biology* 32: 362-366.
- Conan, A., Jumeau, J. Dehaut, N. Enstipp, M. Georges, J. Y. and Handrich, Y. 2022. Can road stormwater ponds be successfully exploited by the European green frog (*Pelophylax* sp.)? *Urban Ecosystems* 25: 35-47.
- Costa, R. N. and Nomura, F. 2016. Measuring the impacts of Roundup Original on fluctuating asymmetry and mortality in a Neotropical tadpole. *Hydrobiologia* 765: 85-96.
- Costa, R. N., Solé, M. and Nomura, F. 2017. Agropastoral activities increase fluctuating asymmetry in tadpoles of two neotropical anuran species. *Austral Ecology* 42: 801-809.
- Delgado-Acevedo, J. and Restrepo, C. 2008. The contribution of habitat loss to changes in body size, allometry, and bilateral asymmetry in two *Eleutherodactylus* frogs from Puerto Rico. *Conservation Biology* 22: 773-782.
- Dönmez, M. and Şişman, T. 2021. The morphometric and erythrometric analyses of *Pelophylax ridibundus* living in anthropogenic pollution resources. *Turkish Journal of Zoology* 45: 314-328.
- Earl, J. E. and Whiteman, H. H. 2009. Effects of pulsed nitrate exposure on amphibian development. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 28: 1331-1337.

Earl, J. E. and Whiteman, H. H. 2010. Evaluation of phosphate toxicity in Cope's Gray Treefrog (*Hyla chrysoscelis*) tadpoles. *Journal of Herpetology* 44: 201-208.

Eisemberg, C. C. and Bertoluci, J. 2016. Fluctuating asymmetry in populations of the South American frog *Physalaemus cuvieri* (Leptodactylidae) in areas with different degrees of disturbance. *Journal of Natural History* 50: 1503-1511.

Eterovick, P. C., Bar, L. F. Souza, J. B. Castro, J. F. Leite, F. S. and Alford, R. A. 2015. Testing the relationship between human occupancy in the landscape and tadpole developmental stress. *PLoS One* 10: e0120172.

Eterovick, P. C., Sloss, B. L. Scalzo, J. A. and Alford, R. A. 2016. Isolated frogs in a crowded world: Effects of human-caused habitat loss on frog heterozygosity and fluctuating asymmetry. *Biological Conservation* 195: 52-59.

Gallant, N. and Teather, K. 2001. Differences in size, pigmentation, and fluctuating asymmetry in stressed and nonstressed northern leopard frogs (*Rana pipiens*). *Ecoscience* 8: 430-436.

Gondim, P. D. M., Rodrigues, J. F. M. and Cascon, P. 2020. Fluctuating asymmetry and organosomatic indices in anuran populations in agricultural environments in semi-arid Brazil. *Herpetological Conservation and Biology* 15: 354-366.

Guillot, H., Boissinot, A. Angelier, F. Lourdais, O. Bonnet, X. and Brischoux, F. 2016. Landscape influences the morphology of male common toads (*Bufo bufo*). *Agriculture, Ecosystems & Environment* 233: 106-110.

Guo, R., Zhang, W., Ai, S. Ren, L. and Zhang, Y. 2017. Fluctuating asymmetry rather than oxidative stress in *Bufo raddei* can be an accurate indicator of environmental pollution induced by heavy metals. *Environmental monitoring and assessment* 189: 1-10.

Khattab, M. A. 2021. Genotoxicity and limbs asymmetry in the Egyptian toad (*Sclerophrys regularis*) as biomarkers for heavy metals toxicity. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries* 25: 705-717.

Lauck, B. 2006. Fluctuating asymmetry of the frog *Crinia signifera* in response to logging. *Wildlife Research* 33: 313-320.

- Levin, A. N., Artemova, L. V. and Rybkina, N. S. 2012. On the assessment of the state of the environment by the level of fluctuating asymmetry in tailless amphibians on the example of the lake frog (*Rana ridibunda*). *Principles of Ecology* 3: 82-88.
- Matías-Ferrer, N. and Escalante, P. 2015. Size, body condition, and limb asymmetry in two hylid frogs at different habitat disturbance levels in Veracruz, Mexico. *Herpetological Journal* 25: 169-176.
- McCoy, K. A. and Harris, R. N. 2003. Integrating developmental stability analysis and current amphibian monitoring techniques: an experimental evaluation with the salamander *Ambystoma maculatum*. *Herpetologica* 59: 22-36.
- Montalvão, M. F., Da Silva Castro, A. L. De Lima Rodrigues, A. S. De Oliveira Mendes, B. and Malafaia, G. 2018. Impacts of tannery effluent on development and morphological characters in a neotropical tadpole. *Science of the Total Environment* 610: 1595-1606.
- Niemeier, S., Mueller, J. and Roedel, M. O. 2019. Fluctuating asymmetry-appearances are deceptive. Comparison of methods for assessing developmental instability in European common frogs (*Rana temporaria*). *Salamandra* 55: 14-26.
- Pyke, G. H. 2008. Mining a museum frog collection for environmental bio-indicators using specimens of the Striped Marsh Frog *Limnodynastes peronii*. *Pacific Conservation Biology* 14: 200-205.
- Reeves, R. A., Pierce, C. L. Smalling, K. L. Klaver, R. W. Vandever, M. W. Battaglin, W. A. and Muths, E. 2016. Restored agricultural wetlands in central Iowa: habitat quality and amphibian response. *Wetlands* 36: 101-110.
- Saber, S. A., El Salkh, B. A. Said, A. S. Said, R. E. and Gadel-Rab, A. G. 2016. Limbs asymmetry as biomarker in the Egyptian toad *Amietophrynus regularis* Exposed to Atrazine and Nitrates. *International Journal of Ecotoxicology and Ecobiology* 1: 103-110.
- Saber, S., Tito, W. Said, R. Mengistou, S. and Alqahtani, A. 2017. Amphibians as bioindicators of the health of some wetlands in Ethiopia. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine* 66: 66-73.

- Sasaki, K., Lesbarrères, D. Beaulieu, C. T. Watson, G. and Litzgus, J. 2016. Effects of a mining-altered environment on individual fitness of amphibians and reptiles. *Ecosphere* 7: e01360.
- Sievers, M. 2017. Sand quarry wetlands provide high-quality habitat for native amphibians. *Web Ecology* 17: 19-27.
- Söderman, F., Van Dongen, S., Pakkasmaa, S. and Merilä, J. 2007. Environmental stress increases skeletal fluctuating asymmetry in the moor frog *Rana arvalis*. *Oecologia* 151: 593-604.
- Valeeva, G. R. and Karpov, M. V. 2017. Assessment of the environmental quality and its changes using indicators of asymmetry in vertebrates. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences* 4: 3720-3726.
- Vershinin, V. L., Gileva, E. A. and Glotov, N. V. 2007. Fluctuating asymmetry of measurable parameters in *Rana arvalis*: methodology. *Russian Journal of Ecology* 38:72-74.
- Wright, A. N. and Zamudio, K. R. 2002. Color pattern asymmetry as a correlate of habitat disturbance in spotted salamanders (*Ambystoma maculatum*). *Journal of Herpetology* 36: 129-133.
- Zakharov, V. M., Krysanov, E. Y. Pronin, A. V. and Trofimov, I. E. 2017. Study of developmental homeostasis in natural populations. Health of environment concept: Methodology and practice of estimation. *Russian Journal of Developmental Biology* 48: 355-368.
- Zhang, W., Guo, R. Ai, S. Yang, Y. Ding, J. and Zhang, Y. 2018. Long-term heavy metal pollution varied female reproduction investment in free-living anura, *Bufo raddei*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 159: 136-142.
- Zhelev, J. M. 2011. Bioindicative assessment of the state of two biotopes in Southern Bulgaria based on fluctuating asymmetry and phenetic composition of the populations of the lake frog *Rana ridibunda* Pallas, 1771 (Anura, Amphibia, Ranidae) and the red-bellied toad *Bombina bombina* Linnaeus, 1761 (Amphibia, Anura, Discoglossidae) under syntopic habitat conditions. *Science Perspectives* 7: 7-18.

Zhelev, Z. M., Arnaudov, A. D. Popgeorgiev, G. S. and Dimitrov, H. A. 2012. Assessment of ecological status of two rivers with different types of anthropogenic pollution in Southern Bulgaria based on the level of fluctuating asymmetry in the populations of marsh frog *Rana ridibunda* (Amphibia: Ranidae). *Acta Zoologica Bulgarica* 4: 225-231.

Zhelev, Z. M., Popgeorgiev, G. S. and Georgieva, Z. K. 2013. Ecological status of the river Sazliyka and its tributaries (Southern Bulgaria) as indicated by developmental stability of *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Ranidae). *Acta Zoologica Bulgarica* 65: 371-380.

Zhelev, Z. M., Popgeorgiev, G. S. and Georgieva, Z. K. 2014. Fluctuating asymmetry in the populations of *Pelophylax ridibundus* and *Pseudepidalea viridis* (Amphibia: Anura) in the region of the lead and zinc plant "Kardzhali" (South Bulgaria). *Acta Zoologica Bulgarica*, 66, 83-87.

Zhelev, Z. M., Popgeorgiev, G. S. Arnaudov, A. D. Georgieva, K. N. and Mehterov, N. H. 2015. Fluctuating asymmetry in *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Ranidae) as a response to anthropogenic pollution in South Bulgaria. *Archives of Biological Sciences* 67: 1009-1023.

Zhelev, Z. M., Arnaudov, A. D. and Boyadzhiev, P. S. 2015. Ecological status of the Sazliyka river and its tributaries (Blatnitsa and Sokolitsa) as indicated by the color polymorphism and sexual composition of the populations *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Ranidae). *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 21: 1148-1156.

Zhelev, Z. M., Tsonev, S. V. and Arnaudova, D. N. 2017. Health status of *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) (Amphibia: Ranidae) in a rice paddy ecosystem in southern Bulgaria: body condition factor and fluctuating asymmetry. *Acta Zoologica Bulgarica* 8: 169-176.

Zhelev, Z., Tsonev, S. Georgieva, K. and Arnaudova, D. 2018. Health status of *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Ranidae) in a rice paddy ecosystem in Southern Bulgaria and its importance in assessing environmental state: haematological parameters. *Environmental Science and Pollution Research* 25: 7884-7895.

Zhelev, Z. M., Tsonev, S. V. and Angelov, M. V. 2019. Fluctuating asymmetry in *Pelophylax ridibundus* meristic morphological traits and their importance in assessing environmental health. *Ecological Indicators* 107: 105589.

Zhelev, Z., Mollov, I. and Tsonev, S. 2021. Fluctuating asymmetry in meristic morphological traits of *Bufo viridis* (Laurenti, 1768) (Anura: Bufonidae): Application for assessing environmental quality of two semi-natural habitats in Plovdiv city, Bulgaria. *Acta Zoologica Bulgarica* 73: 401-407.

Zhelev, Z., Tsonev, S. and Boyadzhiev, P. 2022. Using of fluctuating asymmetry in adult *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Anura: Ranidae) meristic traits as a method for assessing developmental stability of population and environmental quality of their habitat: industrial area in southern Bulgaria. *Turkish Journal of Zoology* 46: 220-227.