



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO
FACOLTÀ DI SCIENZE E TECNOLOGIE

Corso di Laurea Triennale in Scienze Naturali

Classe F66

STUDIO SULL'ALIMENTAZIONE DI PELOPHYLAX BERGERI
NELLA RISERVA REGIONALE DELLA SENTINA.

Relatore interno: Professor Diego RUBOLINI

Relatore esterno: Professor Mario MARCONI

Elaborato finale di:

Chiara DE BONIS

Matr: 816497

Anno accademico 2019-2020

Indice:

Riassunto	1
Introduzione	1
1. Caratteristiche generali degli anfibii	4
1.1 Caratteristiche generali del genere Anura	5
1.2 Famiglia Ranidae	7
1.3 <i>Pelophylax bergeri</i>	8
2. Caratteristiche dell'area di studio	10
2.1 La Riserva naturale Regionale della Sentina	10
2.2 Siti di raccolta dati.....	14
3. Materiali e metodi	16
4. Risultati	18
5. Analisi dei dati	20
6. Conclusioni	26
Nota bibliografica	29

Riassunto.

Obiettivo della tesi è analizzare l'alimentazione della popolazione di *Pelophylax bergeri*, presente all'interno della Riserva Regionale della Sentina di San Benedetto del Tronto, tramite la tecnica del lavaggio stomacale.

Si ritiene necessario conoscere le abitudini alimentari di questi anfibi perché considerati impattanti su alcune specie di insetti, i quali sono normalmente bersaglio di pesticidi e altri prodotti inscrivibili nella categoria dei *pest control* chimici. È utile comprendere se questi animali possano rappresentare un sistema parallelo ed integrato per il controllo degli insetti infestanti, tenendo in considerazione la pressione antropica che agisce direttamente sul benessere dei sistemi naturali della Riserva Sentina.

Introduzione.



Foto 1 – Veduta aerea della Riserva Sentina

La Riserva Regionale della Sentina è stata istituita a San Benedetto del Tronto il 14 dicembre 2004 ed è caratterizzata dalla presenza di ambienti unici, quali: cordoni sabbiosi, zone umide retrodunali e praterie salmastre. È necessario specificare che il suo territorio risulta particolarmente antropizzato come

conseguenza di diverse modifiche attuate direttamente sul territorio della riserva ma anche sulle aree circostanti.

Quest'area naturale ha una superficie pari a circa 180 ettari e il suo spazio confina a sud con il fiume Tronto, a nord con il centro urbano di Porto d'Ascoli, ad est con il Mare Adriatico e ad ovest con la ferrovia adriatica e una strada ad alto scorrimento. Si nota, perciò, un netto isolamento ecologico dalla matrice circostante, costituito principalmente da insediamenti urbani, industriali e infrastrutture di vario genere.

Questa frammentazione danneggia particolarmente le specie di rettili e anfibi, mentre risulta meno problematica per altre classi di vertebrati. A influire in maggior misura sulla vita della batracofauna sono le infrastrutture stradali che ne limitano la diffusione ed il contatto con le popolazioni limitrofe, a fronte di una capacità di spostamento molto limitata.



Foto 2 – Campo coltivato della Riserva Sentina

Tra le attività interne che influiscono sul benessere della fauna presente in Riserva, le più importanti sono le pratiche agricole che, tuttavia, potrebbero essere rese più compatibili se applicate con metodi adeguati come quelli che caratterizzano l'agricoltura biologica.

In generale, l'aumento dell'uso dei pesticidi ha determinato anche un incremento della mortalità nella fauna selvatica. Infatti, il loro uso non solo determina un impatto indiretto riducendo le disponibilità alimentari per gli uccelli ed i mammiferi predatori, ma determina anche un impatto diretto che causa la morte degli animali o il fallimento della loro riproduzione (James & Fox 1987, James *et al.* 1990; Baril, 1993; Newton, 1998; Dechant *et al.*, 2003).

I principali pesticidi utilizzati in agricoltura sono gli organoclorurati, gli organofosfati, i carbammati e i piretroidi.

Purtroppo, nella maggior parte del territorio dell'area protetta della Riserva Sentina, le pratiche agricole sono condotte in maniera intensiva a colture orticole, con notevole impatto sull'ecosistema in generale. Vengono effettuati diversi raccolti annui, con intense concimazioni chimiche e pesticidi.

Per quanto riguarda le conseguenze sulle popolazioni di anfibi, l'uso degli antiparassitari riduce la quantità di insetti disponibili per l'alimentazione di diverse specie. La finalità del lavoro di questa tesi è osservare se si possa trovare un legame tra l'alimentazione degli individui campionati di Rana di Berger presenti in Riserva della Sentina e le specie di insetti che sono normalmente *target* dei pesticidi, al fine di comprendere se questi batraci possano costituire un'alternativa ecologica all'uso di prodotti chimici utilizzati nelle attività agricole della Riserva.

1. Caratteristiche generali degli anfibi.

Gli anfibi viventi, che costituiscono la classe più piccola e meno studiata dei vertebrati tetrapodi, sono classificati in tre ordini: gli anuri, sono gli anfibi più diffusi e comprendono sia le rane che i rospi; i cecilioidei, questo secondo ordine include specie tropicali prive di arti e alquanto vermiformi; gli urodeli, racchiudenti le salamandre e i tritoni, sono meno frequenti degli anuri ma rimangono facilmente osservabili. Delle circa 8.263 specie di batraci viventi (17 dicembre 2020), soltanto 213 sono cecilioidei, approssimativamente 760 sono urodeli e le restanti sono anuri. Nuovi individui sono scoperti ogni anno e il loro numero è in continuo aumento. Dal 1985 ad oggi, il numero totale di specie è aumentato di circa il 60%.

La definizione “anfibi” deriva dal termine greco “amphibios”, ovvero “che vive sulla terra e nell’acqua”, gli anfibi rappresentano uno degli eventi fondamentali nell’evoluzione degli animali: la conquista delle terre emerse ad opera dei vertebrati. Infatti, nel corso di decine di milioni di anni, gli anfibi evolvettero la capacità di fare un uso almeno limitato degli habitat terrestri.

Rispecchiando la propria filogenesi come tetrapodi di transizione, la maggior parte degli anfibi viventi presenta una miscela di adattamenti acquatici e terrestri. Per esempio, molte specie hanno larve che respirano per mezzo delle branchie e che in seguito maturano in adulti che respirano per mezzo di una coppia di polmoni. I polmoni degli anfibi sono piuttosto inefficienti rispetto a quelli degli altri tetrapodi. Di conseguenza, in molte specie, la cute è molle e umida, e svolge una funzione importante negli scambi gassosi. Lo sviluppo dei polmoni degli anfibi fu accompagnato dalla formazione di un cuore con cavità separate per ricevere il sangue proveniente dal corpo e dai polmoni. Come altro riflesso della “doppia vita” degli anfibi, gli arti di alcuni anfibi sono adattati sia per la locomozione terrestre sia per la locomozione acquatica; per esempio, gli arti posteriori della maggior parte degli anuri sono adattati per il salto sul terreno e tuttavia i piedi di alcune specie sono palmati per il nuoto. Nonostante tali caratteri, la maggior parte degli anfibi è legata all’acqua per la riproduzione e la deposizione delle uova, le quali sono prive di membrane impermeabili o di

guscio quindi la loro sopravvivenza è possibile sono in ambienti acquatici o umidi.

1.1 Caratteristiche generali del genere Anura.

Il nome Anura, composto dal greco “an” privativo e da “ura” ovvero “coda”, significa “senza coda”.

Locomozione: la specializzazione del corpo al salto è l’aspetto scheletrico più evidente degli anuri, gli arti posteriori e i muscoli formano un sistema di leve che può “catapultare” un anuro in aria. Numerose specializzazioni morfologiche sono associate con questo tipo di locomozione: gli arti posteriori sono allungati e tibia e perone sono fusi. È chiaramente necessaria una robusta pelvi collegata saldamente alla colonna vertebrale, così come il consolidamento della colonna stessa. L’ileo è allungato e si prolunga anteriormente, mentre le vertebre posteriori sono fuse in una solida barra: l’urostilo. La colonna vertebrale è corta, composta da sole 5-9 vertebre presacrali con zigapofisi che limitano la possibilità di curvatura laterale.

Respirazione: gli anfibi moderni presentano una più ampia varietà di meccanismi per gli scambi gassosi rispetto a qualsiasi altro gruppo di vertebrati. La fase larvale è caratterizzata dalla presenza di branchie, la cui perdita è legata al raggiungimento della maturità sessuale, fatta eccezione per le specie di urodeli neotenicici. Gli scambi gassosi cutanei, ovvero attraverso la superficie del corpo e la superficie orale, hanno luogo negli adulti della maggior parte delle specie. I polmoni degli anfibi sono sacchi sottili vascolarizzati ma il loro meccanismo di ventilazione è piuttosto inefficiente rispetto a quello degli altri vertebrati terrestri.

Alimentazione: la bocca degli anuri è provvista di denti vomerali, i quali trattengono l’alimento finché non viene deglutito intero, anziché masticarlo. Gli anuri deglutiscono l’alimento sollevando il pavimento della bocca e al tempo stesso premendo verso il basso con i bulbi oculari, un’azione che spinge l’alimento attraverso la faringe e l’esofago. Nei bufonidi e nei ranidi, la lingua è fissata alla parte anteriore della bocca ed è libera posteriormente; quando un insetto entra nel raggio d’azione della lingua, questa si ribalta in avanti

attraverso la bocca aperta, catturando l'insetto sull'apice posteriore rivestito di muco.

Vista: molti anuri sono capaci di catturare insetti con la lingua grazie alla loro capacità ben sviluppata di percepire le configurazioni nel campo visivo. Alcune cellule presenti nella retina, chiamate rivelatori dei margini, permettono all'anuro di avere uno "schizzo" dell'ambiente; un altro gruppo di cellule, dette rivelatori degli eventi, rispondono a margini di movimento di differente brillantezza (es. rami in movimento che si profilano contro il cielo o l'acqua). Un terzo gruppo di cellule, dette rivelatori della diminuzione dell'illuminamento, entrano in gioco quando avviene un'improvvisa diminuzione dell'illuminamento (es. l'avvicinarsi di un predatore tradito dalla sua ombra). Alcune cellule rispondono soltanto a oggetti in movimento molto piccoli (es. insetti in volo o gli apici di amenti ondegianti), queste sono dette rivelatori di insetti.

Udito: le strutture acustiche variano notevolmente negli anfibi, gli anuri hanno un orecchio simile a quello degli altri tetrapodi, benché siano privi di orecchio esterno. Il più importante adattamento per l'udito sulle terre emerse è il timpano, una struttura che vibra in sincronismo con le onde sonore e che trasmette le vibrazioni alla columella nell'orecchio interno.

Fecondazione: nella maggior parte degli anuri la fecondazione è esterna, il maschio usa le zampe anteriori per afferrare la femmina nella regione pettorale o pelvica. L'amplesso può protrarsi per alcune ore o perfino giorni prima che la femmina deponga le uova.

Fase larvale: un girino è un animale completamente diverso da un anuro adulto, sia morfologicamente sia ecologicamente. I girini della maggior parte degli adulti sono erbivori filtratori, mentre tutti gli adulti sono carnivori, predatori individuali e, grazie a queste differenze, i girini possono sfruttare risorse che non sono disponibili agli anuri adulti.

La transizione da girino a rana implica una metamorfosi completa, lo sviluppo larvale negli anuri viene generalmente diviso in tre fasi: (1) durante la premetamorfosi i girini crescono di dimensioni, con piccole modifiche nella morfologia; (2) nella premetamorfosi compaiono le zampe posteriori e la

crescita corporea continua, anche se a un tasso più lento; (3) durante il culmine metamorfico compaiono le zampe anteriori e regredisce la coda. La fase culminante è la parte più rapida della metamorfosi, con una durata di soli pochi giorni dopo un periodo larvale prolungatosi settimane o mesi. Una ragione della celerità di questo stadio può essere la maggiore vulnerabilità ai predatori, una larva con zampe e coda non è né una buona rana né un buon girino: le zampe inibiscono il nuoto e la coda interferisce con il salto.

Habitat e relazioni ambientali: la distribuzione dei gruppi di anfibi è correlata direttamente con le loro esigenze d'acqua, la maggior parte delle specie si disidrata e muore rapidamente negli ambienti aridi. La temperatura è un altro fattore importante nella vita degli anfibi, essendo ectodermi, i batraci si riscaldano o si raffreddano in risposta alle variazioni della temperatura ambientale. Generalmente, molte specie usano adattamenti comportamentali per sopravvivere alle temperature estreme stagionali: molti anuri trascorrono l'inverno ibernando nel fango sul fondo di fiumi o laghi, mentre altri possono costruire gallerie nell'humus. Le loro cellule e i loro tessuti sono protetti contro la formazione di cristalli di ghiaccio dal glicerolo, un "anticongelante" che si accumula nelle cellule quando si avvicina l'inverno.

Nella catena alimentare, gli anfibi si difendono piuttosto passivamente, affidandosi prevalentemente alle sostanze tossiche secrete da ghiandole cutanee, mimetizzandosi con colori e segni del corpo, il comportamento riservato e i rapidi salti. Gli anuri vengono consumati in grandi quantità da pesci, tartarughe, serpenti, aironi e accipitridi. Oltre agli anfibi adulti, quantità enormi di uova e larve di anfibi vengono consumate da vari predatori.

Gli anfibi adulti predano una grande quantità di piccoli animali che si muovono attivamente, tra cui piccoli molluschi, anellidi, insetti e altri invertebrati.

1.2 Famiglia Ranidae.

La famiglia *Ranidae* è molto ampia, include circa 720 specie distribuite in tutto il mondo e organizzate in 50 generi. Comunemente, i ranidi hanno le tipiche caratteristiche morfologiche che contraddistinguono le rane: arti posteriori

muscolosi, che terminano in un autopodio palmato, e una fase larvale il cui sviluppo è legato all'ambiente acquatico.

In Italia, i generi di cui si compone questa famiglia sono: *Rana*, *Pelophylax* e *Lithobates*, quest'ultima categoria include un'unica specie alloctona proveniente dal Nord America, ovvero *Lithobates catesbeianu* (comunemente detta rana toro).

1.3 Pelophylax bergeri.

Sino agli anni '80, le rane verdi europee erano comprese nell'unica specie denominata da Linneo *Rana esculenta*. Nel 2006 Frost *et al.* hanno suddiviso le specie italiane della Famiglia Ranidi in due generi: il genere *Rana*, attribuito alle rane brune o rosse, e il genere *Pelophylax*, che indica le rane verdi. Si tratta di rane di medie dimensioni, distribuite in tutto il territorio nazionale, ove dimostrano preferenza per le fasce planiziali e collinari.

Tra i maschi e le femmine di questa specie, esiste uno spiccato dimorfismo in quanto quest'ultime sono di maggiori dimensioni e non possiedono la callosità sul pollice, né i sacchi vocali. I maschi invece sono dotati di una grossa e vistosa callosità nuziale grigia sul pollice a forma di semiluna, specialmente in primavera, durante la fase riproduttiva, quando emettono vocalizzazioni per richiamare le femmine, estroflettendo i sacchi vocali ai lati del capo.



Foto 3 – Individuo adulto di *Pelophylax bergeri*

In entrambi i sessi, il corpo è slanciato, con testa leggermente più larga che lunga, pupilla orizzontale, con iride dorata e spesso con macchie nerastre. Il timpano è ben evidente. La colorazione dorsale della pelle è in genere verde o talora grigia verdastra con macchie scure di forma e dimensione variabili,

spesso è presente una stria vertebrale mediana chiara. La livrea ha significato mimetico, confondendo l'animale in acqua con la vegetazione palustre. La gola e le parti ventrali sono bianco-giallastre provviste di piccole macchie e marmorizzazioni grigie.

Pelophylax bergeri vive in ogni tipo di raccolta d'acqua, sia naturale che artificiale, caratterizzata da acqua ferma e ricca di vegetazione ripariale e sommersa, tollerando anche acque mediamente inquinate. Nei mesi più caldi è attiva anche di notte, mentre in inverno sverna in genere sul fondo dei corpi idrici. L'accoppiamento e la riproduzione hanno luogo nei mesi primaverili-estivi, quando i maschi emettono i loro tipici canti in acqua. Nel corso di un amplesso ascellare la femmina può deporre fino a 3500 uova (Rastogi *et al.*, 1983) di solito a più riprese, raggruppate in grosse masse gelatinose ancorate alla vegetazione sommersa; i girini, generalmente, completano la metamorfosi in tre-quattro mesi. L'adulto si nutre di artropodi, anellidi e piccoli molluschi e, nonostante sia provvisto di secrezioni tossiche sulla pelle, viene predato da molti animali, soprattutto aironi e serpenti del genere *Natrix*.

2. Caratteristiche dell'area di studio.

Sita nel tratto di costa subito a nord della foce del fiume Tronto, a cavallo tra le Marche e l'Abruzzo, l'area della Riserva naturale della Sentina presenta una morfologia di ambiente di fondovalle costiero caratterizzata da depositi alluvionali attuali e recenti. Intorno agli anni '50 quest'area è stata oggetto di profonde modifiche operate dal Consorzio di Bonifica del Tronto che, per recuperare aree da avviare alla coltivazione, ha provveduto al suo quasi totale interrimento e prosciugamento.

La Regione Marche si affaccia sull'Adriatico allineando le vallate dei suoi numerosi fiumi più o meno perpendicolarmente alla linea di costa; per tale conformazione le correnti invernali provenienti dall'est europeo apportano durante la stagione fredda frequenti perturbazioni ed abbassamenti repentini della temperatura. Rispetto all'ambito tirrenico, il clima del versante adriatico presenta maggiore continentalità, risultando generalmente più freddo e con escursioni termiche annue più marcate (IPLA, 2001). Nonostante ciò, la temperatura media di quest'area si aggira intorno ai 15°C, con una tendenza pluviometrica annuale tra i 700 mm e gli 800 mm.

2.1 La Riserva naturale Regionale della Sentina.

La Riserva naturale regionale Sentina comprende una delle poche zone costiere marchigiane risparmiate dalla cementificazione. Il sito presenta un'eccezionale importanza floristica e biogeografica per le Marche e più in generale per il settore centro-meridionale adriatico italiano. Oltre che per la flora e la vegetazione, notevole è l'importanza dell'area per l'avifauna, soprattutto migratoria: infatti esso costituisce uno dei pochissimi punti di sosta per i migratori tra il Gargano e le zone umide del Delta del Po.

Flora: la Riserva Sentina costituisce un'area importante dal punto di vista floristico. Il suo territorio è caratterizzato, infatti, dalla presenza di specie rare e un'elevata diversità. In seguito alle ultime ricerche svolte, sono state riconosciute 456 specie vegetali, di cui numerose rare e, tra queste, alcune sono specie presenti nella Regione Marche solo nella Riserva Sentina.

Tra le specie più importanti si segnalano *Salicornia patula* e *Suaeda maritima*, queste sono tipiche della cosiddetta steppa salata, una tipologia di habitat estremo, condizionato dalla presenza di acqua marina, dove proliferano organismi che riescono a sopportare grandi variazioni del bilancio idrico dell'intero ecosistema.

Come anticipato nell'introduzione della tesi, una grande porzione dell'area della Riserva è occupata da coltivi, ovvero aree dove le specie vegetali spontanee sono state sostituite da specie agricole.

Avifauna: la Riserva Sentina rappresenta una tappa fondamentale per molte specie di uccelli migratori durante i loro spostamenti. Questa, infatti, costituisce una sorta di isola naturale in un contesto fortemente antropizzato e risulta essere una delle poche zone umide tra quelle della Romagna e del Gargano. Grazie ai numerosi censimenti e studi effettuati negli anni, sono state riscontrate all'incirca 180 specie di uccelli, sia migratori che svernati, di cui alcune con un alto interesse conservazionistico. Tra le specie più rappresentative, sicuramente bisogna ricordare il Cavaliere d'Italia (*Himantopus himantopus*), il quale è il simbolo della Riserva; il Fratino (*Charadrius alexandrinus*), un piccolo uccello limicolo molto importante dal punto di vista conservazionistico e al quale è stato dedicato il progetto di salvaguardia Life Choose Nature sulle vicine coste ferraresi; il Corriere grosso (*Charadrius hiaticula*), la cui popolazione svernante a livello nazionale conta solo tra i 100 e i 200 individui; il Martin Pescatore (*Alcedo atthis*) e il Falco di Palude (*Circus aeruginosus*).

Teriofauna: il numero di mammiferi osservabili in Riserva non è molto elevato, probabilmente come conseguenza di una forte pressione antropica. Sono state riscontrate oltre 20 specie di mammiferi, di cui 6 comprese negli Allegati II e IV della Direttiva Habitat. Tra le specie la cui presenza merita di essere menzionata, ci sono: il Riccio europeo (*Erinaceus europaeus*); la Faina (*Martes foina*); Vespertilio maggiore (*Myotis myotis*) e il Vespertilio di Dauberton (*Myotis daubentonii*), i quali sono fondamentali per il controllo di alcuni insetti come le zanzare.

Batracofauna: uno studio effettuato nel 2009 riguardo la fauna minore della Riserva Sentina (Marini et. al., 2010) riporta la presenza di 4 specie di anfibi; tra

queste, quelle di maggiore interesse conservazionistico sono il Rospo smeraldino e la Raganella italiana. Sia *B. balearicus* che *H. intermedia* sono tra le specie incluse nell'Allegato IV della Direttiva Habitat, mentre *P. bergeri* e *B.*



Foto 4 – Individuo adulto di *Hyla intermedia*

bufo ne sono escluse. Dal punto di vista della conservazione, le specie di anfibi presenti nella Riserva Sentina risultano risentire specialmente delle attività agricole e della pessima gestione dei canali d'acqua.

Erpetofauna: per quanto riguarda i rettili, ne sono state rilevate 8 specie, tra le quali è stata osservata la presenza, seppur sporadica e per lo più limitata a ritrovamenti di esemplari spiaggiati, della Tartaruga marina. Le altre specie comprendono: Ramarro occidentale (*Lacerta bilineata*) e Biacco (*Hierophis viridiflavus*), la cui conservazione può essere considerata non soddisfacente presso la Riserva Sentina, questo soprattutto a causa della loro vulnerabilità alla



Foto 5 – Individuo adulto di *Natrix natrix*

frammentazione degli habitat e a pratiche agricole che prevedono l'uso di pesticidi; Lucertola muraiola (*Podarcis muralis*), non sembra risentire di fattori particolarmente avversi, tuttavia le pratiche agricole intensive e l'uso di pesticidi potrebbero danneggiarla; Lucertola campestre (*Podarcis sicula*), la cui permanenza potrebbe essere favorita da una riduzione delle pressioni antropiche che agiscono sull'ambiente della Riserva; Geco comune (*Tarentola mauritanica*) e Geco verrucoso (*Hemidactylus*

turcicus), queste due specie sono particolarmente soggette alla predazione da parte del gatto domestico; Natrice dal collare (*Natrix natrix*), legata prevalentemente ad ambienti umidi e facilmente osservabile in diverse tipologie di corpi idrici.

Sfruttamento del terreno: come precedentemente riportato, l'agricoltura è l'attività nettamente predominante che si pratica all'interno della Riserva. Purtroppo, nella maggior parte del territorio dell'area protetta, le pratiche agricole sono condotte in maniera intensiva con notevole impatto sull'ecosistema in generale. Gli appezzamenti coltivati dai privati hanno un impatto decisamente inferiore, sia a causa del minor numero di trattamenti chimici subiti sia grazie al fatto che comprendono vigneti, oliveti, alberi da frutto, siepi ed alberature, che determinano una maggiore biodiversità (presenza di frutti, siti per nidificazione e rifugio), oltre ad un migliore aspetto paesaggistico.

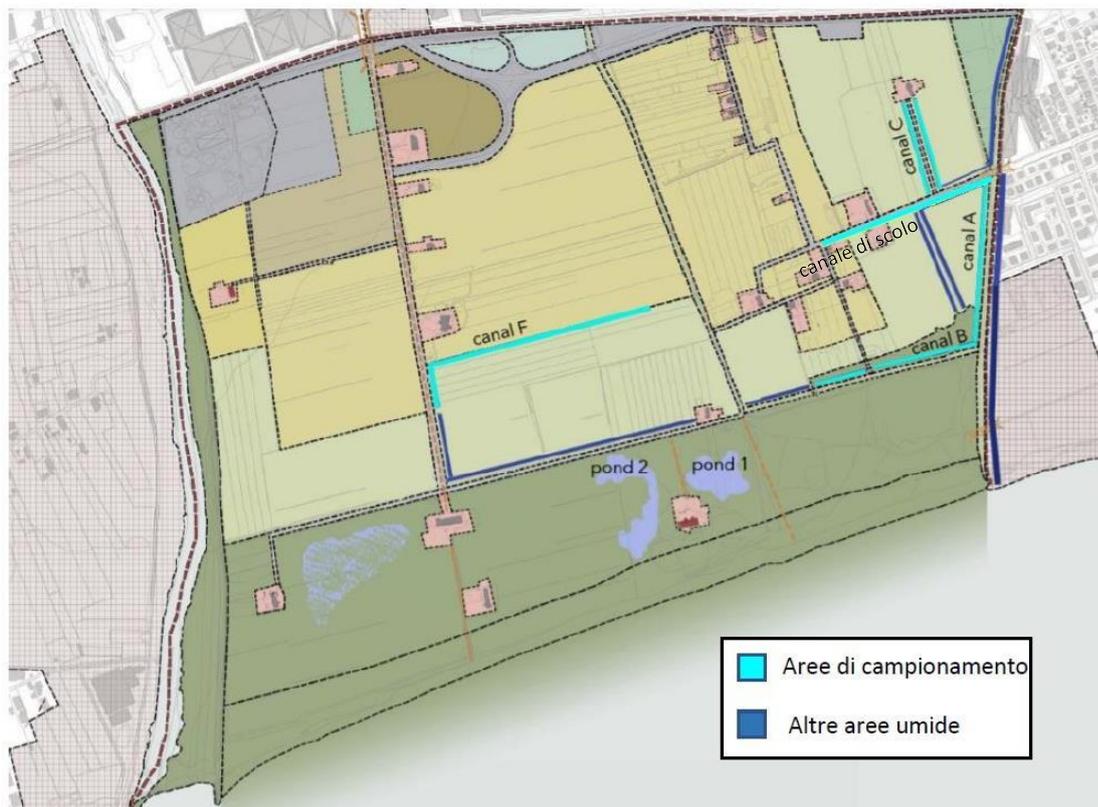
All'interno del territorio della Riserva è vietata la costruzione di nuovi edifici e l'ampliamento di quelli esistenti. La parte settentrionale, essenzialmente di proprietà privata, risulta maggiormente urbanizzata rispetto a quella meridionale.

Nella porzione sud-ovest è presente il depuratore comunale di San Benedetto del Tronto.

Per quanto riguarda la viabilità, all'interno della Riserva sono presenti principalmente strade a fondo naturale, tranne che nella porzione settentrionale. Sebbene il volume di traffico al suo interno sia basso, l'impatto su alcune specie di Anfibi, in particolare sul rospo smeraldino, non è trascurabile, soprattutto durante il periodo primaverile, quando essi si recano nelle pozze d'acqua.

È da considerare anche l'erosione costiera dovuta principalmente alla costruzione dei moli a nord e sud della Riserva, e che determinano un arretramento continuo della linea di costa con conseguente perdita di habitat naturali e seminaturali (...).

2.2 Siti di raccolta dati.



Mappa 1 - Aree di raccolta degli esemplari

La raccolta dei campioni, il cui contenuto stomacale è stato successivamente analizzato, si è svolta presso alcune regioni della Riserva Sentina riconoscibili in vari siti di prelievo:

- Canale A: misura 330 m di lunghezza, presenta sponde ripide e ricche di vegetazione. Il livello d'acqua rimane piuttosto stabile e si aggira intorno ai 50 cm di profondità. Le acque di questo fossato derivano dalla rete irrigua che lo collega al fiume Tronto;
- Canale B: misura 450 m di lunghezza, in questo caso le sponde risultano essere meno ripide e meno ricche di vegetazione rispetto al canale A. È soggetto a disseccamento durante i periodi in cui l'*input* delle acque dal Fiume Tronto è chiuso;
- Canale C: è un doppio canale con una lunghezza di 195 m ed è localizzato nel bel mezzo di un campo coltivato, a separare i due corsi d'acqua vi è un sentiero. A differenza degli altri due siti, il suo apporto idrico non è collegato alle acque del Tronto;
- Canale F: presenta la maggiore profondità e si estende per una lunghezza di 350 m all'interno di coltivi, le sponde sono ripide e

presentano poca vegetazione. Il livello delle acque tende a diminuire verso la fine del canale, ove si creano delle pozze temporanee;

- Canale di Scolo: lambisce il lato sinistro del primo tratto di Via del Cacciatore, la strada principale della riserva Sentina, non è soggetto a prosciugamento durante il periodo estivo e l'accesso non risulta limitato dalla presenza di vegetazione;
- Stagno 1: è la pozza d'acqua più profonda all'interno del territorio della Riserva, l'altezza delle acque oscillano tra i 60 e i 100 cm. È stato creato a seguito della partecipazione al progetto Re.S.C.We del 2012. È densamente popolato da vegetazione acquatica ed è circondato da un fitto canneto;
- Stagno 2: è alimentato dall'eccesso di acqua dello Stagno 1, non presenta un substrato impermeabilizzato, il che porta ad avere un ambiente particolarmente favorevole per gli uccelli limicoli. Non presenta vegetazione acquatica e la popolazione di specie anfibe sono presenti solo in seguito all'aumento del livello dell'acqua.

3. Materiali e metodi.

La raccolta dei dati è stata effettuata da maggio del 2020 fino a ottobre del 2020. Come conseguenza delle misure restrittive per prevenire la diffusione del COVID-19, non è stato possibile intraprendere il lavoro per la tesi durante l'inizio e la fase centrale della fenologia degli anuri.



Foto 6 – Misurazione distanza tra urostilo e muso

La ricerca ha implicato uscite costanti durante le ore notturne al fine di poter catturare alcuni esemplari di Rana di Berger presenti nella Riserva Sentina; prima di verificarne il contenuto stomacale, per ciascun individuo venivano considerati alcuni parametri biologici:

- Sesso;
- Lunghezza tra punta del muso e quella dell'urostilo;
- Peso.

Per quanto concerne la misurazione della lunghezza, è stato utilizzato un calibro digitale con precisione di 0.01 mm, mentre per il peso è stata usata una bilancia portatile con precisione di 1 g.

Successivamente si è proceduto con la raccolta del contenuto dello stomaco, la quale è stata effettuata tramite lavaggio stomacale utilizzando una siringa privata del suo ago, al cui beccuccio è stato applicato un particolare tubicino adatto per l'inserimento nell'esofago.



Foto 7 – Postazione di lavoro per il controllo del contenuto stomacale

I campioni di contenuto stomacale sono stati poi inseriti in provette, alle quali veniva applicata una dicitura al fine di poter ricondurre il reperto ad un determinato esemplare.

In seguito, il lavoro è stato terminato nel laboratorio della sede di San Benedetto del Tronto dell'Università degli Studi di Camerino, ove i contenuti delle provette sono stati analizzati

tramite l'uso di un microscopio, così da poter procedere al riconoscimento delle varie specie ingerite dalle Rane di Berger presenti presso la Riserva regionale Sentina.

4. Risultati.

Riserva Sentina	
Uscita n.	Individui
I	1
II	2
III	1
IV	5
V	1
VI	8
VII	6
VIII	1
IX	9
X	9
XI	5
XII	2
TOT.	50
Media:	≈4

Tabella 1 - Media catture

Durante le 12 uscite notturne, la media di cattura è stata di 4 individui di Rana di Berger per sera. Il picco massimo di incontro e cattura degli esemplari è stato registrato in corrispondenza delle uscite IX e X, rispettivamente il 03-09-2020 e il 24-09-2020, ovvero in concomitanza con l'aumento delle precipitazioni e quindi di umidità.

Come già specificato prima, a seguito delle norme per prevenire la diffusione del virus COVID-19, non è stato possibile effettuare

l'attività di ricerca durante il periodo riproduttivo degli anuri, ovvero quando si riscontra il picco massimo di attività e risulta più semplice l'incontro con questi batraci.

Il maggior numero dei campionamenti è stato effettuato lungo il Canale A, il quale è risultato essere il più accessibile per via della poca copertura da parte della vegetazione e poiché, nonostante le poche precipitazioni del periodo estivo, non è stato soggetto ad un'eccessiva evaporazione, la quale avrebbe potuto portare al conseguente disseccamento. Inoltre, molti esemplari sono stati incontrati e prelevati lungo il canale di scolo che lambisce il lato sinistro della porzione iniziale di Via del Cacciatore, ovvero la strada asfaltata che percorre interamente la Riserva Sentina. Anche in quest'ultimo caso, il sito si è rilevato preferibile soprattutto durante il periodo estivo poiché alimentato

continuamente da acque di scolo.

Riserva Sentina	
<i>Pelophylax bergeri</i>	
Totale	50
Maschi	32
Femmine	18
Sex Ratio (M:F)	1,8

Tabella 2 - Sex Ratio

Dei 50 individui prelevati nella Riserva Regionale Sentina e sottoposti alla pratica di lavaggio stomacale per studiarne l'alimentazione, 32 rientravano nel genere maschile mentre i restanti 18 erano

femmine.

Analizzando il rapporto tra i sessi vediamo come i maschi catturati siano stati quasi il doppio delle femmine. Naturalmente, gli esemplari raccolti sono in numero troppo basso perché questi dati riflettano la *sex ratio* dell'intera popolazione di *Pelophylax bergeri* nella Riserva Sentina.

5. Analisi dei dati.

I dati raccolti a seguito delle uscite notturne nella Riserva Naturale Regionale Sentina e quelli ottenuti dall'analisi in laboratorio dei contenuti stomacali sono stati analizzati utilizzando i fogli di calcolo Excel.

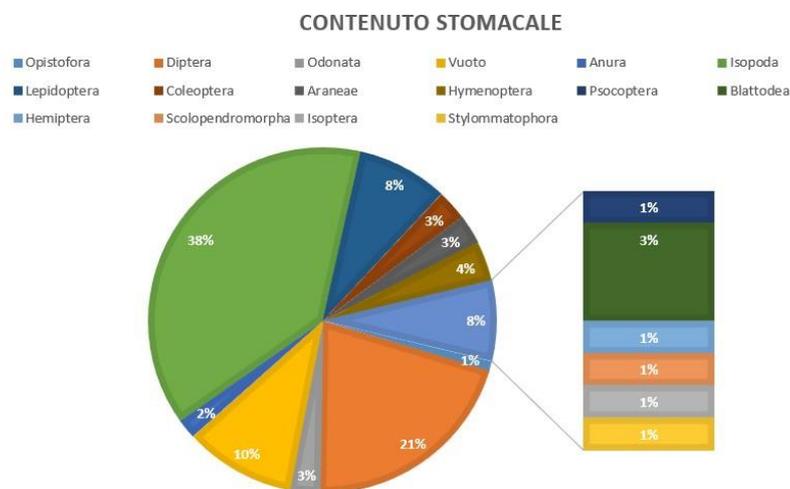


Grafico 1 - Contenuti stomacali

Nel complesso, si possono distinguere 107 elementi che sono stati espulsi dallo stomaco dei campioni raccolti.

Tenendo in considerazione gli ordini di appartenenza degli organismi osservati durante l'analisi dei contenuti stomacali, si può osservare come il 38% di questi appartengano all'ordine degli Isopodi. La ragione principale dell'abbondanza di quest'ultimi è stato il ritrovamento di 39 dei cosiddetti Porcellini di Terra od onischi (*Armadillidium vulgare*) all'interno di una singola Rana di Berger, di questi 39 solo uno è un individuo adulto mentre i restati sono forme giovanili.

Nel 21% rientrano i Ditteri, i quali possono essere suddivisi nei due sottordini: Nematocera e Brachycera. Tra i Diptera Brachycera osservati in laboratorio, è stato possibile riconoscere alcune famiglie, tra cui quella dei Muscidae, degli Anthomyiidae e un rappresentante della famiglia dei Syrphidae, nello specifico appartenente alla specie *Episyrphus balteatus*.

Sono state riscontrate anche alcune famiglie inscrivibili nel sottordine dei Diptera Nematocera, tra queste si evidenziano quella dei Culicidae, dei Simuliidae e dei Chironomidae.

L'8%, invece, è rappresentato dall'ordine Lepidoptera, tra questi la maggior parte appartiene alla famiglia dei Noctuidae, ovvero la divisione più vasta dell'ordine, che include specie crepuscolari o notturne una volta raggiunto lo stadio adulto. In questa percentuale, però, sono stati rinvenuti anche alcuni bruchi di lepidottero.

Il 10% dei campioni è stato riportato come "vuoto", rientrano in questi casi gli individui di *Pelophylax bergeri* che non hanno espulso nessuna preda durante il processo di lavaggio stomacale.

Il restante 23% include alcuni ordini, i quali, però, sono stati predati in maniera minore e tra questi riconosciamo:

- Ordine Anura, 2%: sono stati riscontrati due casi di cannibalismo grazie al ritrovamento di un intero girino all'interno dello stomaco di un individuo e al riconoscimento di residui di cheratodonti;
- Ordine Araneae, 3%: di questi la maggior parte sono riconducibili alla famiglia degli Araneidae;
- Ordine Blattodea, 3%: tre individui appartenenti a quest'ordine sono stati ritrovati nello stomaco della stessa rana;
- Ordine Coleoptera, 3%;
- Ordine Hemiptera, 1%: con un unico individuo ritrovato facente parte della specie *Cicadella viridis*;
- Ordine Hymenoptera, 4%: quattro organismi di cui uno riconducibile a uno dei due sottordini degli Imenotteri, ovvero quello dei Symphyta, mentre per gli altri tre è stato possibile determinarne la famiglia: due inclusi nella famiglia dei Formicidae e uno in quella dei Vespidae;
- Ordine Odonata, 3%: la totalità dei rinvenimenti appartiene al sottordine degli Zygoptera;
- Ordine Opisthophora, 1%: di cui un unico elemento della famiglia dei Lumbricidae;
- Ordine Psocoptera, 1%: un solo rappresentante della famiglia degli Psocidae;
- Ordine Scolopendromorpha, 1%: la sola unità ritrovata fa parte della specie *Scolopendra cingulata*;

- Ordine Stylommatophora, 1%: una piccola chiocciola della famiglia degli Helicidae.

	Opisthophora	Diptera	Odonata	Anura	Isopoda	Lepidoptera	Coleoptera	Araneae	Hymenoptera	Psocoptera	Blattodea	Hemiptera	Scolopendromorpha	Isoptera	Stylommatophora	Tot.
Freq.	1	22	3	2	41	9	3	3	4	1	3	1	1	1	1	96
p	0,010416667	0,229166667	0,03125	0,020833333	0,427083333	0,09375	0,03125	0,03125	0,041666667	0,010416667	0,03125	0,010416667	0,010416667	0,010416667	0,010416667	
Log p	-1,98227123	-0,63984855	-1,50514998	-1,68124124	-0,36948738	-1,02802872	-1,50514998	-1,50514998	-1,38021124	-1,98227123	-1,50514998	-1,98227123	-1,982271233	-1,98227123	-1,982271233	
H'	0,805381913															
Max H'	1,176091259															
J'	0,684795425															
Tabella 3 - Evenness																

Considerando le specie catturate come una sorta di comunità, si è calcolato l'indice di equipartizione (J) tramite l'Indice di diversità Shannon-Wiener, ottenuto utilizzando un foglio di calcolo del programma Excel. L'indice J può variare tra 0 e 1, dove i valori si avvicinano a 1 indicano comunità con specie ben distribuite, corrispondenti a valori di H' vicini alla diversità massima teorica (Max H'). L'indice della *evenness* ottenuto tende al valore di 0.7, il che implica che gli ordini catturati sono mediamente ben equipartiti. Naturalmente, per ottenere questo dato, non sono stati tenuti in considerazione gli 11 casi in cui gli individui di *Pelophylax bergeri* non hanno espulso alcunché durante il procedimento di lavaggio stomacale.

Si è provato a mettere a confronto gli individui di sesso maschile e femminile, al fine di cercare delle notevoli differenze riguardo alle abitudini alimentari tra esemplari di sesso diverso.

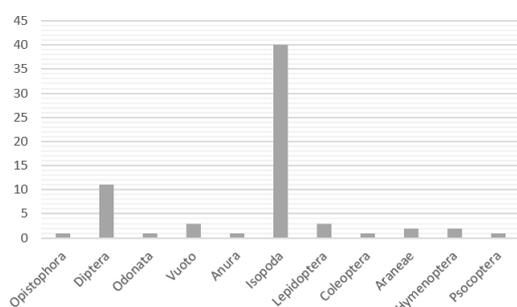


Tabella 4 - Contenuto stomacale individui di sesso femminile

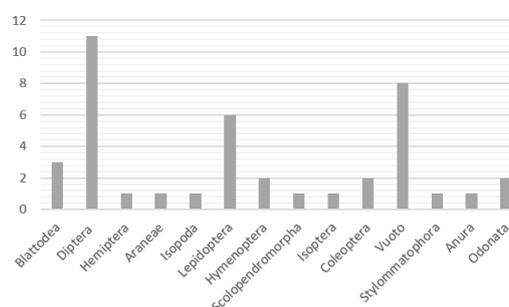


Tabella 5 - Contenuto stomacale individui di sesso maschile

CONTENUTO STOMACALE - FEMMINE

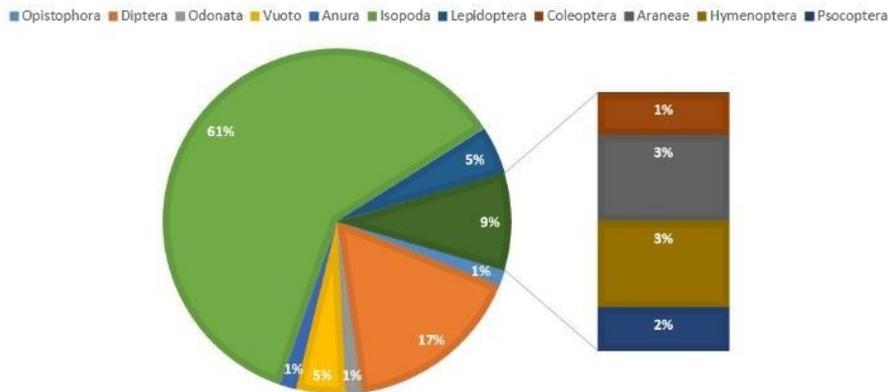


Grafico 2 - Percentuali contenuti stomacali individui di sesso femminile

CONTENUTO STOMACALE - MASCHI

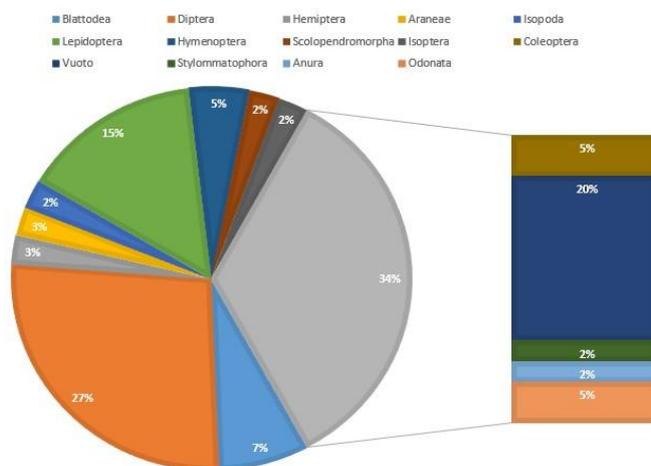


Grafico 3 - Percentuali contenuti stomacali individui di sesso maschile

Osservando sia i grafici a barre che quelli a torta, si nota come la differenza sostanziale sia legata all'ordine Isopoda, questo rappresenta il 61% dell'alimentazione delle femmine mentre costituisce solo il 2% di quella dei maschi. La ragione fondamentale che risiede dietro a questa evidente disparità è il caso fortuito di aver catturato un individuo di Rana di Berger di sesso femminile, il quale presentava all'interno del suo stomaco ben 39 individui di *Armadillidium vulgare*.

Gli ordini maggiormente rappresentati nei contenuti stomacali si confermano essere, sia nelle femmine che nei maschi, quello dei Diptera e quello dei Lepidoptera.

I Diptera ricoprono il 17% degli organismi ritrovati all'interno degli anuri di sesso femminile mentre sono il 27% di quelli di sesso maschile; per quanto

riguarda i Lepidoptera, questi costituiscono il 5% per le femmine mentre il 15% per i maschi.

Inoltre, gli individui di Rana di Berger sono stati suddivisi in tre macrocategorie a seconda della lunghezza tra muso e urostilo dei batraci raccolti. La prima divisione va dai 20mm ai 40mm, la seconda dai 40mm ai 50mm e la terza dai 50mm ai 65mm; il fine di questa separazione è cercare se tra rane di dimensioni diverse vi siano delle evidenti differenze nella scelta delle prede.

Vuoto	4	29%
Diptera	2	14%
Hymenoptera	2	14%
Psocoptera	1	7%
Coleoptera	1	7%
Lepidoptera	3	21%
Araneae	1	7%

Tabella 4 - Contenuti individui 20-40mm

Tenendo in considerazione solo gli individui con una lunghezza da muso a urostilo tra i 20mm e i 40mm, possiamo vedere come il 29% di questi non abbia espulso alcun tipo di organismo animale. Il 21%, invece, aveva ingerito dei Lepidotteri, mentre i Diptera e gli

Hymenoptera rappresentano entrambi il 14% dei campioni ritrovati all'interno degli stomaci.

Per quanto riguarda le rane la cui misura rientra tra i 40mm e i 50mm, il 59% della loro alimentazione è rappresentato dall'ordine Isopoda, il 15% da quello dei Diptera, infine, il 6% fa parte dei Lepidoptera.

Diptera	10	15%
Lepidoptera	4	6%
Vuoto	6	9%
Araneae	1	1%
Odonata	2	3%
Coleoptera	1	1%
Isopoda	40	59%
Anura	2	3%
Stylommatophora	1	1%
Hymenoptera	1	1%

Tabella 5 - Contenuti individui 40-50mm

Blattoidea	3	12%
Isoptera	1	4%
Lepidoptera	3	12%
Coleoptera	1	4%
Diptera	9	36%
Vuoto	1	4%
Odonata	1	4%
Scolopendromorpha	1	4%
Hymenoptera	1	4%
Isopoda	1	4%
Araneae	1	4%
Hemiptera	1	4%
Opisthoptera	1	4%

Tabella 6 - Contenuti individui 50-65mm

Considerando unicamente le rane raccolte che si trovano in un *range* di lunghezza muso-urostilo che va dai 50mm ai 65mm, invece, si nota come il 36% del contenuto dei loro stomaci è costituito dall'ordine Diptera, il 12% dai Lepidoptera e un altro 12% dai Blattoidea.

Anche applicando questa particolare

divisione, i due ordini che rappresentano maggiormente l'alimentazione di *Pelophylax bergeri* presso la Riserva Naturale Sentina sono quello dei Diptera e dei Lepidoptera. Naturalmente, gli Isopoda, seppur la loro percentuale risulti molto elevata per la macrocategoria 40-50mm, corrispondono, come già spiegato prima, a una situazione piuttosto particolare quindi non si pensa possano rientrare tra gli ordini target degli anuri oggetto di studio per questa tesi.

6. Conclusioni.

I risultati ottenuti dimostrano chiaramente come gli anfibi presenti nella Riserva Regionale Sentina consumino artropodi nella maggior parte dei casi, tra questi vi sono ordini a cui sono ascritte specie considerate come infestanti e dannose per i coltivi, come Elateridi del genere *Agriotes*, *Armadillidium vulgare* (Brewer & Arguello, 1980; PIF, 1999; Morrone & Coscarón, 1998; Saini, 2001).

Le larve di alcune specie di Elateridi, ovvero *Agriotes lineatus*, *Agriotes obscurus* e *Agriotes sputator*, sono ritenuti maggiormente importanti per gli attacchi ai coltivi (Parker, W.E. & Howard, J.J. , 2001). Escludendo un approccio chimico ai problemi legati alle infestazioni delle larve dei coleotteri della famiglia degli Elateridi nelle aree coltivate, si possono analizzare i nemici naturali di queste specie; sfortunatamente, i dati pubblicati sui predatori delle suddette larve sono scarsi. La predazione naturale da parte di uccelli (Gratwick, 1989) e insetti predatori (e.g. Fox & MacLellan, 1956) è stata osservata ma, probabilmente, raramente rappresenta un impatto significativo al fine della riduzione dei danni apportati ai coltivi interessati dall'infestazione.

Anche alcune specie di funghi sono responsabili della riduzione delle popolazioni di Elateridi infestanti, questi sono responsabili soprattutto dell'attacco nei confronti degli individui adulti. Studi in Svizzera hanno dimostrato come il fungo della specie *Entomophthora elateridiphaga* attacca principalmente gli adulti di *Agriotes sputator*, riducendone sensibilmente la popolazione (Keller, 1976). Il fungo *Metarhizium anisopliae* attacca gli adulti della specie *A. obscurus* nel Regno Unito e di *A. ustulatus* in Italia (L. Furlan). Nonostante le infezioni da fungo entomofago siano relativamente comuni tra gli Elateri e che queste rappresentino una causa di riduzione della popolazione, non si osserva necessariamente un impatto sulla popolazione larvale.

Una gestione efficace delle popolazioni di anfibi anuri, tra cui anche *Pelophylax bergeri*, può rappresentare un metodo per il controllo delle varie specie di artropodi infestanti dei coltivi della Riserva Regionale Sentina. A tal fine si richiede una conoscenza dei fattori che influenzano queste popolazioni (Semlitsch, 2000).

La conservazione, la restaurazione o la creazione di ambienti acquatici nelle aree agricole sono inevitabilmente degli interventi necessari per il mantenimento delle popolazioni di anfibi che vivono in corrispondenza delle aree coltivate. E, senza alcun dubbio, si dovrebbe ridurre al minimo l'uso di prodotti agrochimici, i quali possono essere potenzialmente tossici per la fauna anfibia (Izaguirre *et al.*, 2000; Lajmanovich *et al.*, 2003 a-b; Lajmanovich *et al.*, 2004).

L'uso dei pesticidi può essere ridotto grazie ad adeguati controlli biologici e pratiche agricole quali l'associazione e la rotazione di colture; l'aumento di diversità nei sistemi agricoli intensivi potrebbe esercitare cambiamenti nella diversità dell'habitat che favorirebbero, in ultima analisi, l'abbondanza di nemici naturali, tra cui gli anfibi anuri, e la loro efficacia (Altieri, 1992).

La trasformazione degli ecosistemi porta come risultato l'estinzione delle specie e l'alterazione delle caratteristiche ecologiche come la ricchezza di specie e la sua abbondanza relativa (Galindo-González *et al.*, 2000). È stato dimostrato, inoltre, come l'espansione delle monoculture producono instabilità e una diminuzione nella diversità degli habitat (Altieri, 1994), e che i siti più disturbati generalmente presentano una minore ricchezza e abbondanza di specie di anuri (Bishop *et al.*, 1999; Hazell *et al.*, 2001; Knutson *et al.*, 2004).

Inoltre, la maggior abbondanza e presenza di anfibi anuri tende a essere riscontrata in presenza di ambienti eterogenei, i quali presentano una diversa composizione a livello di vegetazione e temperature idonee alla sopravvivenza delle specie di batraci (Maidonneuve & Rioux, 2001).

Bisogna anche tenere in considerazione che le specie di anfibi anuri nel mondo sono in declino (Blaustein *et al.*, 1994; Storfer, 2003) e tra i fattori più impattanti vi è l'agricoltura intensiva (Bishop & Pettit 1992), è inevitabile quindi pensare che sia necessario realizzare interventi di rinaturalizzazione e recupero delle aree umide, ed incentivare l'agricoltura biologica al fine sia di ottenere una maggiore efficienza nella produzione alimentare ma anche nel recupero e la conservazione delle aree naturali.

D'altro canto, la conservazione a lungo termine della diversità richiede una strategia di gestione che considera i modelli spaziali e temporali della biodiversità regionale, nonché la progettazione di agroecosistemi ecologicamente appropriati (Altieri, 1994).

Nota bibliografia:

- James P.C., Fox G.A., 1987 - Effects of some insecticides on productivity of Burrowing Owls. *Blue Jay* 45: 65-71
- James P.C., Fox G.A., Ethier T.J., 1990 - Is the operational use of strychnine to control ground squirrels detrimental to Burrowing Owls? *J. Raptor Res.* 24: 120- 123
- Baril A., 1993 - Pesticides and wildlife in the prairies: current regulatory issues. Pages 44-48 in G. L.Holroyd, H. L. Dickson, M. Regnier, and H. C. Smith, editors. Proceedings of the third endangered species and prairie conservation workshop. Natural History Occasional Paper 19. Provincial Museum of Alberta, Edmonton, Alberta
- Newton I., 1998 - Population limitation in birds. Academic Press. London. Pp. 437-444
- Dechant, J.A., Sondreal M.L., Johnson D.H., Igl L.D., Goldade C.M., Rabie P.A., Euliss B.R., 2003 - Effects of management practices on grassland birds: Burrowing Owl. Northern Prairie Wildlife Research Center, Jamestown
- Zoologia – L. Mitchell, J. A. Mutchmor, W. D. Dolphin – Zanichelli 2011-2012 (1991)
- Zoologia dei Vertebrati – F. H. Pough, C. M. Janis, J. B. Heiser – Pearson 2014
- Atlante degli Anfibi e dei Rettili della Campania – F. M. Guarino, G. Aprea, V. Caputo, N. Maio, G. Odierna, O. Picariello – Massa Editore 2012
- Atlante dei Vertebrati tetrapodi della Provincia di Rimini – L. Casini, S. Gellini – Provincia di Rimini 2008
- Anfibi e rettili della Riserva Naturale Regionale Sentina (Marche) – Atti VIII congresso Nazionale Societas Herpetologica Italica (Chieti, 22-26 settembre 2010) – G. Marini, V. Di Martino, G. B. Piccinini, D. Fiacchini, 2010 - Ianieri Edizioni, Pescara, pp.63-68
- Flora della Riserva Naturale Regionale Sentina – F. Conti, L. Bracchetti, L. Gubellini – Città di San Benedetto del Tronto 2013
- Guida agli Insetti d'Europa – M. Chinery – Franco Muzzio Editore 2010
- Guide des coléoptères d'Europe – G. du Chatenet – Delachaux & Niestlé 1990

- Elementi di Ecologia – T. M. Smith, R. L. Smith – Pearson Italia 2013
- Parker, W.E. & Howard, J.J. , 2001. The biology and management of wireworms (*Agriotes* spp.) on potato with particular reference to the U.K.. *Agricultural and Forest Entomology*, 3: 85-98
- Ridgman, W., 1990 *Potato Pests*, ed. M. Gratwick. vii 104 pp.
- Fox, C., & MacLellan, C. (1956). Some Carabidae and Staphylinidae Shown to Feed on a Wireworm, *Agriotes sputator* (L.), by the Precipitin Test. *The Canadian Entomologist*, 88(5)
- Keller, S., 1976. An epizootic of the fungus *Entomophthora elateridiphaga* in a population of the click beetle, *Agriotes sputator*, *Schweizer Landwirtschaft Forschung*, 15, 489±495
- Furlan, L. (1998) The biology of *Agriotes ustulatus* Schaëller (Col., Elateridae). II. Larval development, pupation, whole cycle description and practical implications. *Journal of Applied Entomology*, 122, 71±78.
- Izaguirre, M. F., Lajmanovich, R. C., Peltzer, P. M., Peralta soler, A. y Casco, V. H. 2000. Cypermethrin-Induced apoptosis in the telencephalon of *Physalaemus biligonigerus* tadpoles (Anura: Leptodactylidae). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 65: 501-507.
- Altieri, M. A. 1992. Biodiversidad, agroecología y manejo de plagas. CETAL. Santiago de Chile. 162
- Galindo-González, J., Guevara, S. y Sosa, V. J. 2000 Bat- and bird-generated seed rains at isolated trees in pastures in a tropical rainforest. *Conservation Biology*, 14 (6):1693-1703.
- Bishop, C.A., Mahony, N.A., Struger, J., NG, P. y Pettit, K.E. 1999. Anuran development, density and diversity in relation to agricultural activities in the Holland River watershed, Ontario, Canada (1990-1992). *Environmental Monitoring Assessment*, 57: 21-43.
- Hazell, D., Cunningham, R., Lindenmayer, D., Mackey, B. y Osborne, W. 2001. Use of farm dams as frog habitat in an Australian agricultural landscape: factors affecting species richness and distribution. *Biological Conservation*, 102: 155-169.
- Knutson, M.; Richardson, W., Reineke, D. M, Gray, B. R., Parmelee, J. R. y Weick, S.E. 2004. Agricultural ponds support amphibian population. *Ecological Applications*, 14 (3): 669-684.
- Blaustein, A. R., Wake, D. B. y Sousa, W. P. 1994. Amphibian declines: judging stability, persistence, and susceptibility of populations to local and global extinction. *Conservation Biology*, 8: 60-71.
- Storfer, A. 2003. Amphibian declines: future directions. *Diversity and Distributions*, 9: 151– 163.

- Bishop, C.A. y Pettit, K. E. (Eds.). 1992. Declines in Canadian Amphibian Populations: Design a National Monitoring Strategy, Can. Wildl. Serv. Occas. Paper 76, Environment Canada Ottawa.
- Altieri, M. A. 1994. Biodiversity and Pest Management in Agroecosystems. Haworth Press, New York.