



CIÈNCIES

Diagnosi de la diversitat i distribució d'amfibis al Parc Natural dels Aiguamolls de l'Empordà

Per Sandra Saura-Mas,^(*) Maria Pifarré,^(**) Cecilia Pedernera^(***)

Resum

Els últims anys, els amfibis han sofert una gran davallada a escala mundial, ja que són un dels grups animals més vulnerables als efectes del canvi global. Aquest estudi té com a objectiu principal millorar el coneixement sobre l'estat de conservació de les poblacions d'amfibis del Parc Natural dels Aiguamolls de l'Empordà (PNAE), l'ànim de poder crear les bases per a millorar el seu estat de conservació. El segon objectiu és proporcionar les primeres dades quantitatives sobre la presència de la infecció pel fong *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) en espècies d'amfibis que habiten el PNAE. Els resultats d'aquest treball indiquen que després de 36 anys, als Aiguamolls de l'Empordà s'hi continuen trobant les set espècies d'anurs descrites anteriorment: *Hyla meridionalis*, *Epidalea calamita*, *Pelophylax perezi*, *Discoglossus pictus*, *Bufo spinosus*, *Pelobates cultripes*, *Pelodytes punctatus* i possiblement algun exemplar d'*Alytes obstetricans*. Durant el mostreig no s'ha detectat cap espècie d'urodel en cap de les seves fases vitals, i per tant, no podem corroborar l'existència de *Triturus marmoratus* ni de *T. helveticus* al PNAE. D'altra banda, el fong Bd tan sols s'ha trobat al polígon nord del Parc, en un adult de *D. pictus*, suggerint que aquesta espècie introduïda podria jugar un paper important en l'epidemiologia de la malaltia al PNAE.

Paraules clau

Amfibis, aiguamolls, Alt Empordà, conservació, *Batrachochytrium*, diversitat

Abstract

In recent years, the amphibians have suffered a major decline worldwide, because they are one of the animal groups more vulnerable to the effects of global change. The main aim of the study was to improve the knowledge on the conservation status of the amphibian populations in the Natural Park of Aiguamolls de l'Empordà (PNAE) with the objective of being able to set up the basis to improve their conservation. The second aim was to achieve quantitative data on the presence of the infection by the fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) in amphibian species that inhabit the PNAE. The results of this study indicate that, after 36 years, that the seven Anuran species described in the past: *Hyla meridionalis*, *Epidalea calamita*, *Pelophylax perezi*, *Discoglossus pictus*, *Bufo spinosus*, *Pelobates cultripes*, *Pelodytes punctatus* and possibly some individuals of *Alytes obstetricans* are still present. None of the Urodela species was detected during sampling at any of the stages of life, therefore it cannot be confirmed the existence of *Triturus marmoratus* neither *Triturus helveticus* in PNAE. Moreover, the Bd fungus was only found on the northern part of PNAE in an adult of *Discoglossus pictus*, suggesting that these introduced species could play an important role in the epidemiology of this disease in the PNAE.

Keywords

Amphibians, wetlands, Alt Empordà, conservation, diversity *Batrachochytrium*

Recepció: 06/06/2016 • Acceptació: 01/08/2016.

* Doctora en biologia per la Universitat Autònoma de Barcelona. CREAM (Centre de Recerca Ecològica i Aplicacions Forestals). Unitat d'Ecologia, Departament de Biologia Animal, Vegetal i Ecologia. Universitat Autònoma de Barcelona, E-08193 Bellaterra, Barcelona, Catalunya. Correu-e: sandrasauramas@gmail.com

** Veterinària per la Universitat Autònoma de Barcelona. Maestra en Medicina Veterinària i Zootecnia per la Universidad Nacional Autònoma de México. Centre de Fauna dels Aiguamolls de l'Empordà, Castelló d'Empúries, Catalunya. Correu-e: m.pifarre.olive@gmail.com

*** Veterinària per la Universidad Nacional Autònoma de México. Maestra en Ciencias de la Salud y Produccion Animal per la Universidad Nacional Autònoma de México. Doctora en Veterinària per la Universitat Autònoma de Barcelona. Asesora independiente en bienestar animal. cecipedernera@gmail.com

INTRODUCCIÓ

Els Aiguamolls de l'Empordà són una important zona humida de Catalunya i una de les principals de la península Ibèrica (Carrera, 1999). Les seves característiques úniques, que engloben hàbitats tan diversos com llacunes salabroses, estanys dolços, boscos de ribera, closes i conreus fan que mantinguin una gran diversitat biològica i que gairebé tota la seva totalitat fos declarada Parc Natural dels Aiguamolls de l'Empordà (PNAE) l'any 1983. Tot i ser àmpliament coneguts per la seva fauna ornitològica, potencialment, mostren també una gran riquesa específica d'amfibis, havent estat citats al PNAE set espècies d'anurs i dues d'urodels (Bea *et al.*, 1994).

Segons els últims censos realitzats fa alguns anys a través del SAC (Seguiment d'Amfibis de Catalunya), algunes de les espècies d'amfibis més abundants i amb presència en més diversitat d'hàbitats són la reineta (*Hyla meridionalis*) (Hme), la granota verda (*Pelophylax perezi*) (Ppe) i el gripau corredor (*Epidalea calamita*) (Eca) (Garrigós i Mañé, 2007). Sembla que el tòtil comú (*Alytes obstetricans*) (Aob) també és present en àrees més perifèriques del parc (Garrigós i Mañé, 2008). En zones conreades, s'hi pot trobar la granoteta de punts (*Pelodytes punctatus*) (Ppu), el gripau comú (*Bufo spinosus*) (Bsp) i el gripau d'esperons (*Pelobates cultripipes*) (Pcu) (Carrera, 1999; Bea *et al.*, 1994). La granota pintada (*Discoglossus pictus*) (Dpi), considerada espècie introduïda a la península Ibèrica, també la podem trobar en diferents punts del parc natural (Bea *et al.*, 1994). Pel que fa als urodels, el tritó palmat (*Lissotriton helveticus*) (Lhe), des de fa anys, es considera pràcticament extingit als Aiguamolls de l'Empordà. Als canals, pous i zones entollades entremig de conreus també ha estat trobat el tritó verd (*Triturus marmoratus*) (Tma). La darrera cita publicada on queda constància de la detecció d'aquestes dues espècies d'urodels, l'any 1981 (Bea

et al., 1994; Fèlix i Marquès, 1985), és una cita als Aiguamolls de l'Empordà, però fora dels límits administratius del parc natural. De totes maneres, cal esmentar que, des de llavors, si bé no hi ha cap cita publicada o registrada, sí que es té constància oral de persones vinculades al PNAE i amb coneixements naturalistes, que asseguren l'existència de *Triturus marmoratus* en zones de la Reserva integral dels Estanys (RNI 1).

Els últims anys, els amfibis han sofert una gran davallada a escala mundial, ja que són un dels grups animals més vulnerables als efectes del canvi global (Stuart *et al.*, 2004), i és per aquest motiu que l'estat de les seves poblacions és una de les principals preocupacions de la UICN (Unió Internacional per a la Conservació de la Natura). Aquesta situació també va portar que diferents òrgans per la conservació de les espècies a escala internacional creessin el Pla d'Acció per a la conservació d'Amfibis (ACAP) i es van engegar accions de conservació tant *in-situ* com *ex-situ* (EAZA, 2010). Entre les principals causes del declivi hi trobem: les espècies introduïdes, el canvi climàtic, la destrucció d'hàbitat i les malalties emergents com la infecció fúngica dels amfibis anomenada quitridiomicosi (Berger *et al.*, 1998).

Aquesta malaltia pandèmica és causada pel fong *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd d'ara en endavant), i s'ha relacionat amb grans mortalitats d'amfibis almenys a quatre continents (Fisher *et al.*, 2009), causant el declivi o extinció de més de 200 espècies en tot el món (Skerratt *et al.*, 2007). Per això hi ha un gran interès en comprendre i predir la seva distribució i prevalença. Aquest quitridiomicet va ser identificat recentment com agent de la malaltia (Longcore *et al.*, 2007), però l'examen d'espècimens de museu ha revelat casos de quitridiomicosi des del 1938 al sud d'Àfrica i des de la dècada del 1960 al Canadà (Ouellet *et al.*, 2005; Skerratt *et al.*, 2007). La quitridiomicosi pot causar extincions perquè el Bd compta amb una àmplia gamma d'hostes, incloent tant les larves d'amfibis com els adults, alguns dels quals són resistents als seus efectes i actuen com a reservoris per al patògen (Brunner *et al.*, 2004; Retallick *et al.*, 2004; Lips *et al.*, 2006; Murray *et al.*, 2009; Sapsford, 2012). La dinàmica d'hoste-patògen subjacent a la quitridiomicosi està fortament influenciada per la temperatura. Al laboratori, el Bd creix òptimament de 15 a 25°C i mor per sobre de 28-30 °C (Piotrowski *et al.*, 2004; Stevenson *et al.*, 2013). A la natura, la prevalença de Bd és sovint més alta en les estacions més fredes i més baixa als mesos càlids (Woodhams i Alford 2005; Brem i Lips 2008; Voordouw *et al.*, 2010; Whitfield *et al.*, 2012; Sapsford *et al.*, 2013). Els corrents d'aigua poden transportar zoòspores de Bd des de les terres altes a les terres baixes i amb això

augmentar la prevalença de la infecció per Bd a les zones baixes, tot i que aquestes zones tendeixen a ser més càlides i per tant menys propícies pel creixement de Bd (Sapsford *et al.*, 2015).

A escala peninsular, s'ha estudiat en diferents indrets geogràfics, com per exemple al Parc Nacional de Peñalara (Bosch & Martínez-Solano, 2006), Madrid, a Ibon de Acherito, Pirineu aragonès, on hi va haver una elevada mortalitat de tòtils (*Alytes obstetricans*) (Walker *et al.*, 2010), i al Parc Nacional de Doñana, on diverses espècies van sortir positives (Hidalgo-Vila *et al.*, 2012). A més, també s'ha detectat en poblacions reintroduïdes i crescudes en captivitat de Ferreret (*Alytes muletensis*), espècie endèmica de la serra de Tramuntana, Mallorca (Walker *et al.*, 2008). Pel que fa a Catalunya, s'ha confirmat que, de moment, el fong Bd no ha estat detectat al Montseny (Obón *et al.*, 2013), dada de gran rellevància per la conservació de les poblacions de l'espècie d'urodel endèmic de l'àrea (*Calotriton arnoldi*).

La transmissió d'aquesta infecció fúngica està íntimament lligada a les zones d'aigua dolça, ja que és el medi on el fong allibera les seves zoòspores (Carey *et al.*, 2006). El PNAE té grans extensions inundables i això fa que, potencialment, sigui un lloc idoni per a les poblacions d'amfibis, però, d'altra banda, també provoca que pugui ser un possible lloc de dispersió ràpida del Bd. No obstant això, actualment no es té coneixement de la prevalença i distribució del Bd al PNAE, ni dels seus possibles efectes en l'estat de conservació de les poblacions d'amfibis de la zona, probablement perquè fins ara mai s'hi havia explorat.

L'objectiu principal d'aquest treball és millorar el coneixement per tal de fer una aproximació a l'estat de conservació de les poblacions d'amfibis del PNAE, així com també, més concretament, de les dues espècies de tritons detectades històricament (*T. marmoratus* i *T. helveticus*), amb l'ànim de poder crear les bases per a millorar el seu estat de conservació.

D'altra banda, es considera primordial en qualsevol campanya de conservació d'amfibis la seva protecció envers la quitridiomicosi (Tarrant *et al.*, 2013). La comprensió de la distribució de Bd dins d'una regió és de gran importància per realitzar protocols de maneig de la malaltia i poder predir el risc de malaltia i extinció, tant a escala mundial com regional (Bielby, 2008). En aquest sentit, l'estudi que aquí presentem té com a segon objectiu proporcionar les primeres dades quantitatives sobre la presència de la infecció per Bd en espècies d'amfibis que habiten el PNAE així com també la distribució geogràfica de la infecció en aquesta zona d'estudi.

L'aproximació a aquests objectius principals s'ha dut a terme a partir del desenvolupament dels següents subobjectius dins l'àmbit del Parc

Natural dels Aiguamolls de l'Empordà: a) Determinació de la diversitat i la distribució temporal i espacial els amfibis del PNAE, b) Detecció de la presència i àrea de distribució de les poblacions d'urodels, c) Determinació de la presència i distribució del fong *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd).

Àrea d'estudi

El PNAE té una extensió de 4721,55 ha i s'hi poden trobar gran varietat d'hàbitats de zones humides, des d'estanys i llacunes permanents i temporals d'aigua dolça i salobre, fins a arrossars i zones de conreus. El riu Muga parteix de forma natural aquesta superfície en dues zones, i per tal de cobrir el màxim nombre de biòtops diferents possibles, es van mostrejar totes dues (Figura 1).

A la primera zona, situada al nord de la Muga, la Reserva Natural Integral 1 (o reserva dels Estanys) (RNI 1), s'hi van mostrejar sis masses d'aigua conformades per quatre basses i dos recs. Es va escollir aquesta zona d'estudi perquè és el lloc on més naturalistes de la comarca van coincidir a descriure que hi havien detectat *T. marmoratus* per darrer cop i durant els darrers 20 anys.

A cada massa d'aigua, li vam atorgar un codi alfanumèric: 6- el Tec; 7A- Bassa 2 de les Garrigues; 7B- Bassa 3 de les Garrigues; 7C- Rec del Mas de la Torre; 8A- Bassa del Clot de les Guatlles; 8B- Bassa Rodona de Vilaüt; 10- Rec de Torre Mornau (Figura 1).

El rec del Mas de la Torre (7C) només es va prospectar al març, ja que es va assecar a l'abril. El rec de Torre Mornau (10) es va mostrejar els mesos de març i abril i es va decidir no continuar el mostreig al maig a causa de l'absència d'indicadors d'amfibis i a l'elevada presència de cranc de riu americà. A més, el Tec, amb codi 06, es va descartar durant les primeres prospeccions del febrer, a causa de l'alt grau de salinitat que presentava, ja que el feia un hàbitat inadequat pels tritons.

La segona zona, situada al sud de la Muga, és la Reserva Natural Integral 2 (o de les Llaunes) (RNI2) i manté uns nivells més alts de salinitat. En aquesta zona es van seleccionar cinc masses d'aigua amb biòtops ben diferenciats i allunyats entre si: 0- Bassa de Cinc Claus; 1- Meandres de l'Armentera; 2- Estanys del Matà; 3- Les Molleroses, el Cortalet; 4- Arrossars de la Gallinera (Figura 1).

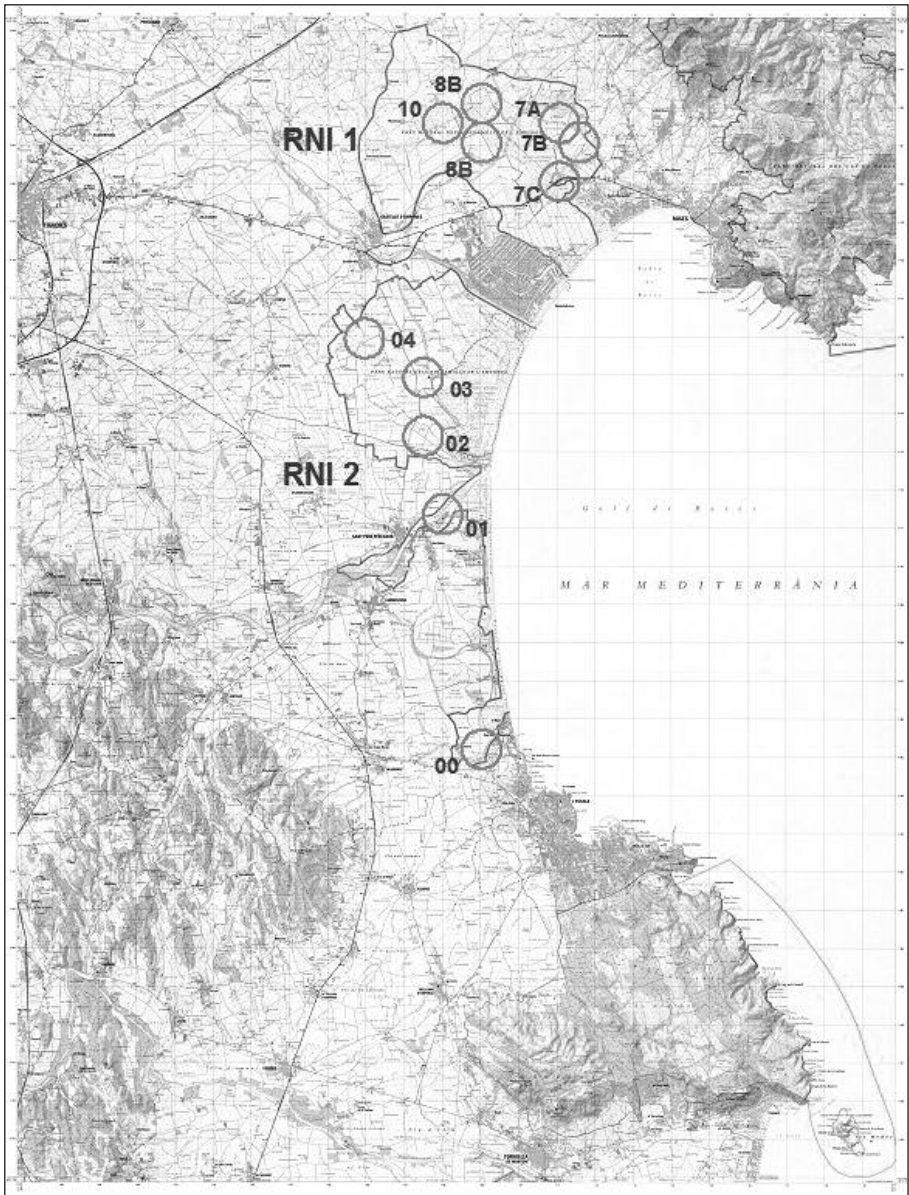


Figura 1. Mapa del Parc Natural dels Aiguamolls amb la localització dels punts de mostreig (en UTM 1x1, escala 1:25.000).

Font del mapa topogràfic: ICC (Institut Cartogràfic de Catalunya). 0. Bassa de Cinc Claus; 1. Meandres de l'Armentera; 2. Estany del Matà; 3. Les Molleroses, el Cortalet; 4. Arrossars de la Gallinera; 6. el Tec; 7A. Bassa 2 de les Garrigues; 7B. Bassa 3 de les Garrigues; 7C. Rec del Mas de la Torre; 8A. Bassa del Clot de les Guatlles; 8B. Bassa Rodona de Vilaiüt; 10. Rec de Torre Mornau.

Metodologia del cens i el seguiment d'amfibis

Pel que fa als tritons, comencen la seva activitat reproductora al mes de febrer. Durant aquest mes del 2015, es van començar a fer les primeres prospeccions per localitzar els punts de mostreig més adequats per tal d'assolir els objectius del treball. Així doncs, els mostrejos es van realitzar durant els tres mesos de març a maig.

La Reserva Natural Integral 1 es caracteritza per tenir comunitats més pròpies d'espais d'aigües dolces i és en aquesta zona on es van donar les darreres cites d'urodels (*Triturus marmoratus* i *Lissotriton helveticus*) del PNAE. Per això es van realitzar mostrejos més intensius en aquesta zona (punts 7A, 7B, 7C, 8A, 8B, 10) durant tres dies i tres nits cada mes. Durant el mostreig nocturn, es feia un transsecte nocturn amb llum frontal per tal de detectar individus adults (de 60 m de llarg per 3 m d'ample, aproximadament). Alhora, es feia un trampeig no invasiu (*funnel traps* tipus Griffiths *et al.* (1996)), en total es posava una trampa cada 5 metres, en un transsecte de 25-35m, fent un total d'entre 5 i 7 trampes depenent de l'accessibilitat dels punts d'aigua. Per últim, durant el mostreig nocturn, també es feia una detecció de cants i recol·lecció de mucus cutani dels adults per la detecció del fong Bd (vegeu el següent apartat per més detalls de la metodologia). El mostreig diürn es realitzava just l'endemà al matí del nocturn, i es prosseguia a la revisió (al cap de 12 h) de les trampes instal·lades la nit anterior, així com també es feia el mostreig amb el salabre (tres transsectes de 10 m màxim, en el qual se submergia el salabre cinc vegades) per tal de detectar larves d'amfibis. Per últim, durant el dia es repetia el transsecte que s'havia fet la nit anterior amb l'objectiu de detectar possibles postes i larves. El mostreig es va dissenyar amb ànim d'assolir igual captura per unitat d'esforç (CPUE) als diferents punts, si bé, en ser un mostreig en el qual participaven molts voluntaris, sovint la CPUE pot ser que hagi variat lleugerament entre punts i dies de mostreig. Aquests s'han realitzat als sis punts d'aigua, els quals hem subdividit en dues zones, prospectades per dos equips. Cada equip disposava del seu propi material de mostreig, que es desinfectava amb el producte Virkon®, d'aquesta manera es podia mantenir la higiene en el mostreig, i així es garantia que no hi havia contaminació entre zones. També es van mostrejar un total de 18 pous dels canals de reg (amb l'ajut del salabre) que uneixen les diferents masses d'aigua mostrejades.

En el polígon de la RNI 2 s'han fet prospeccions seguint la metodologia del SAC (Seguiment d'Amfibis de Catalunya, Feo *et al.*, 2009) als cinc punts

establerts. Aquest tipus de seguiment, bàsicament, inclou un mostreig nocturn auditiu a través de la detecció de cants i un de diürn (visual) amb mostreig amb salabre.

Es va fer la caracterització de biòtops dels onze punts mostrejats segons la metodologia SAC, metodologia creada per membres del grup d'herpetologia de la Universitat de Barcelona, en la qual es pren nota de les coordenades, tipus d'ambient, estabilitat de la massa d'aigua, connectivitat de la bassa, llargada, amplada, superfície, profunditat màxima, % de la vegetació emergida, % de recobriment de riba, substrat, biòtop proper i general (Feo *et al.*, 2009). A més, per controlar possibles factors externs que interfereixen en l'activitat dels amfibis, durant els dies de mostreig, es van anotar la temperatura de l'aire i la de l'aigua, la humitat relativa, les condicions climatològiques, vent (escala Beaufort) i índex de so (vegeu codis de mostreig a la metodologia establerta pel SAC) així com la presència de depredadors potencials d'amfibis. També es van consultar les temperatures de l'aire, de l'aigua, i la humitat relativa d'un punt central del PNAE com és el Cortalet (estació meteorològica).

Metodologia per a la detecció del fong *Batrachochytrium dendrobatidis*

La presa de mostres per la identificació del fong *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) es va dur a terme durant les prospeccions de la RNI 1, ja que és la reserva on es va dur a terme el mostreig més intensiu i, per tant, on hi havia més probabilitats de recol·lectar més individus adults. El mostreig per aquest fong va consistir, per una banda, en la recol·lecció de cadàvers o parts d'aquests (per exemple, pells de gripaus (*Bufo spinosus*) que havien estat depredats) i per l'altra, en la recol·lecció de mucus ventral amb escovillons (Obon *et al.*, 2013). Les mostres de mucus cutani es van extreure amb hisops estèrils que es passaven per la zona del ventre, engonals, aixelles i zona interdigital. Seguint el protocol, aquestes mostres es guardaven a temperatura ambient i les mostres de cadàvers i teixits es guardaven en formol al 10%.

Tota la recol·lecció de mostres es va dur a terme utilitzant guants i de la manera més estèril possible per evitar possibles propagacions de malalties entre zones i/o animals. Els mètodes de mostreig van ser tots no invasius i es va intentar que el temps de manipulació de l'animal fos el mínim possible.

Per detectar la presència del fong Bd a les poblacions d'amfibis estudiades, es va fer una anàlisi Rt-PCR del mucus recol·lectat seguint les

tècniques descrites a Hyatt *et al.* (2007) i Boyle *et al.* (2004). Aquestes anàlisis es van dur a terme al laboratori del Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC, de Madrid, gràcies a la col·laboració del Dr. Jaime Bosch i el seu equip especialista en la detecció d'aquest fong en amfibis i que treballa en l'àmbit de tota la península Ibèrica.

RESULTATS

Determinació de la diversitat i la distribució dels amfibis (anurs i urodels) del PNAE

Distribució dels amfibis al PNAE

Es van realitzar un total de 156 observacions diürnes i nocturnes distribuïdes en les onze estacions de mostreig (sis a la RNI 1 i cinc a la RNI 2) (Taula 1). En aquestes estacions es van poder detectar totes les espècies d'anurs citades anteriorment al PNAE. En cap d'elles es van trobar indicis d'urodels. En totes les estacions, hi va haver presència de més d'una espècie d'amfibi, en la majoria hi conviuen de dos a cinc espècies diferents.

– Distribució espacial d'amfibis a la RNI 1: Es va detectar la presència de set espècies d'amfibis (Taula 3), però a diferència de la RNI 2, en aquesta àrea no s'ha trobat *Alytes obstetricans*, en canvi s'ha observat la presència de *Pelobates cultripès*.

Els dos recs mostrejats a la zona són els que van presentar menys presència d'amfibis, essent nul·la en el rec Mornau (10) i només amb la presència de *Discoglossus pictus* al rec del Mas de la Torre (7C). Totes les basses presenten una notable varietat d'espècies d'amfibis, cinc espècies per zona, i en totes elles s'han trobat en tots els estadis: adults, larves i metamòrfics. Les Garrigues 3 és el lloc on s'han trobat més espècies d'amfibis juntes, fins a un total de sis.

– Distribució espacial d'amfibis a la RNI 2: es van detectar set espècies d'anurs (Taula 2). Estan especialment ben representades *Pelophylax perezzi* i *Hyla meridionalis*. En cap estació es va detectar la presència de *Pelobates cultripès*. Als Estanys del Matà (02), és l'únic punt d'aigua a on s'ha trobat presència d'*Alytes obstetricans*. Al Cortalet (03), és on es van detectar el nombre més elevat d'espècies que conviuen al mateix indret, s'hi van arribar a trobar fins a sis espècies diferents.

Taula 1. Nombre d'observacions diürnes i nocturnes en les diferents estacions de mostreig. 0. Bassa de Cinc Claus; 1. Meandres de l'Armentera; 2. Estanys del Matà; 3. Les Molleroses, el Cortalet; 4. Arrossars de la Gallinera; 6. el Tec; 7A. Bassa 2 de les Garrigues; 7B. Bassa 3 de les Garrigues; 7C. Rec del Mas de la Torre; 8A. Bassa del Clot de les Guatlles; 8B. Bassa Rodona de Vilaüt; 10. Rec de Torre Mornau.

	0	1	2	3	4	6	7A	7B	7C	8A	8B	10	TOTAL
Diürnes	6	6	6	6	6	2	11	11	2	10	10	5	81
Nocturnes	6	6	6	6	6	0	10	10	1	10	9	5	75
	12	12	12	12	12	2	21	21	3	20	19	10	156

Taula 2. Densitat de cants a les cinc estacions de la RNI 2. Codi dels cants: 1=Cants d'individus comptables no solapats. 2=Cants d'individus solapats individualitzables. 3=Cants de cors solapats múltiples.

	Aob	Dpi	Pcu	Ppu	Hme	Bsp	Eca	Ppe
0. Cinc Claus					3	1		2
1. Meandres de l'Armentera		1				1		3
2. Estanys de Matà	1				3		2	2
3. Les Molleroses, el Cortalet		1		1	3	1	3	3
4. Arrossars de la Gallinera					3			3

Taula 3. Densitat de cants a les sis estacions de la RNI 1. Codi dels cants: 1=Cants d'individus comptables no solapats. 2=Cants d'individus solapats individualitzables. 3=Cants de cors solapats múltiples. X=presència de l'espècie no detectada per cants.

	Aob	Dpi	Pcu	Ppu	Hme	Bsp	Eca	Ppe
7A. Bassa de les Garrigues 2			x		3	x	x	3
7B. Bassa de les Garrigues 3		x	x	1	3	x		3
7C. Rec del Mas de la Torre		1						
8A. Bassa del Clot de les Guatlles		1	x		3		x	1
8B. Bassa rodona de Vilaüt		x	2		3		3	3
10. Rec de Torre Mornau								

Els Arrossars de la Gallinera (04) és l'estació on s'han trobat menys espècies, però les espècies representades ho són en abundància. També cal dir que aquest any els arrossars es van començar a inundar a finals de maig, just quan s'estava acabant el mostreig, per tant el seguiment es va fer amb els arrossars secs.

Diversitat dels amfibis al PNAE

A continuació es descriu l'abundància i presència de les vuit espècies d'anurs detectades.

Tòtil (*Alytes obstetricans*):

Només es va detectar a través de cens auditiu, en una estació, als Estanys del Matà (02) durant el mes d'abril.

Granota pintada (*Discoglossus pictus*):

Espècie trobada tant a la RNI₁ (Les Garrigues 3, rec del Mas de la Torre, Bassa Rodona de Vilaüt i el Clot de les Guatlles) com a la RNI 2 (Meandres de l'Armentera i al Cortalet). Trobada en totes les seves fases. Detectada, per cens auditiu, al març i al maig. S'han trobat adults tots tres mesos (n=7), amb un màxim de 5 individus al mes de maig. Es van començar a trobar capgrossos a l'abril (total n=5) i metamòrfics al maig (n=24).

Gripau d'esperons (*Pelobates cultripes*):

Amb presència només a la RNI₁, trobat a les quatre basses prospectades, tant al costat de Vilaüt com al de les Garrigues. A l'abril, detectat per cants i s'observa un exemplar adult en una prospecció nocturna (RNI₁ (8B)). S'observaren nombrosos capgrossos d'abril a maig a les quatre estacions positives, concretament un total de 23, ja que hi van haver 68 capgrossos que van ser trobats a l'abril en les primeres fases de desenvolupament, moment en què són molt semblants als capgrossos d'*H. meridionalis*, i que per tant no podem concretar si pertanyen a una espècie o a l'altra.

Granoteta de punts (*Pelodytes punctatus*):

De les primeres granotes a fer-se presents en ple mes de març, detectades pels seus cants. Aquestes es van escoltar durant els tres mesos de març a maig. Es detectà visualment un adult al març i es van comptabi-

litzar un màxim de tres exemplars a les Garrigues 3 (7B). Són presents a dues estacions d'estudi, una a la RNI1 (7B) i una a la RNI2 (03).

Reineta (Hyla meridionalis):

Àmpliament representada, situada en vuit de les onze estacions, distribuïda a les dues RNI. En totes elles detectada per cants de grans cors solapats entre si. Es comença a escoltar cants al mes de març, però no és fins a l'abril i maig quan els cors són més intensius, i és en aquests mesos quan s'han trobat més adults (total de n=30). Durant el mes d'abril, s'han vist acoblaments sexuals i també els primers capgrossos (n=3), i al maig ja s'han trobat metamòrfics (n=2).

Gripau comú (Bufo spinosus):

Espècie present en cinc dels onze punts d'aigua, així la trobem distribuïda a la RNI1 (zona de les Garrigues) i a la RNI 2 (00, 01 i 03). Es van començar a detectar adults durant el mes de febrer (total d'adults n=4), i és de les úniques espècies que es van trobar restes d'exemplars depredats (per llúdrega, concretament) i atropellats. Es van escoltar pocs cants distribuïts al llarg dels tres mesos de mostreig. Al febrer es van trobar les primeres postes i un màxim de set postes al mes de març, a Les Garrigues 2, i a partir de l'abril ja es van trobar els primers capgrossos (n=13).

Gripau corredor (Epidalea calamita):

Es va detectar a les dues RNI, a la zona del Matà i Cortalet de la reserva 2 i tant a la zona de Vilaüt com a les Garrigues de la reserva 1. Detectada la seva presència per primera vegada al febrer a través d'una posta. A l'abril vam començar a detectar els forts cors típics de l'espècie. Durant aquest mes, sembla que conviuen en les diferents estacions els diversos estadis, així s'observaren un màxim de dotze adults (total n=22), es van veure acoblaments sexuals, es varen capturar diversos capgrossos (n=13) i es van trobar dos metamòrfics. Però no va ser fins al maig quan es van trobar metamòrfics en més abundància (total n=13).

Granota verda (Pelophylax perezi):

És l'amfibi més àmpliament distribuït al Parc Natural, trobant-se a nou de les onze estacions prospectades, únicament absent a dos dels regs (7C i 10). Detectada per cants des del mes de febrer i es va mantenir fins al maig a la majoria d'estacions en cors abundants. S'observaren fins a 44 adults. A partir de l'abril es van començar a trobar capgrossos (n=18).

Les primeres citacions publicades amb informació sobre la presència de les diferents espècies són del 1979-81, any en què es van detectar fins a nou espècies diferents d'amfibis. Cal dir que les dues úniques cites publicades de la presència de tritons al PNAE pertanyen a aquest estudi, però que, estrictament, les cites pertanyen a les zones de fora dels límits administratius del PNAE. La resta d'estudis han estat preferentment, i en la seva majoria, estudis basats en censos auditius, de manera que difícilment es podien detectar algunes espècies d'urodels, com *L. helveticus*, *T. marmoratus*, o anurs, com *P. cultripipes* o *D. pictus*, amb cants fàcilment emmascarats pels nombrosos cors d'*H. meridionalis* o *P. perezi* (Taula 4).

Amb les prospeccions realitzades fins al moment als punts de mostreig descrits, així com també als pous agrícoles circumdants que uneixen les dues zones de la RNI i els antics estanys de Pau, no s'ha pogut constatar la presència de cap espècie de tritó al PNAE.

Taula 4. Espècies d'amfibis detectades al PNAE al llarg dels anys (període 1979-2015). Les dades del 2015 són pròpies, mentre que les fonts de la resta de dades són: del període 1979-81: Bea *et al.*, (1994); del 1985: Fèlix i Marqués (1985); del període 2004-06: Garrigós (2004, 2005, 2006) i del període 2007-08: Garrigós i Mañé (2007, 2008).

- Espècies trobades als aiguamolls dins de l'àrea del PNAE actual.
- Espècies trobades als aiguamolls.

	1979-81	1985	2004	2005	2006	2007	2008	2015	TOTAL d'anys
<i>Alytes obstetricans</i>						●	●	●	3
<i>Discoglossus pictus</i>	●	●					●	●	4
<i>Pelobates cultripipes</i>	●	●	●		●			●	5
<i>Pelodites punctatus</i>	●	●	●		●			●	5
<i>Hyla meridionalis</i>	●	●	●	●	●	●	●	●	8
<i>Bufo spinosus</i>	●				●			●	3
<i>Epidalea calamita</i>	●	●	●	●	●	●	●	●	8
<i>Pelophylax perezi</i>	●	●	●	●	●	●	●	●	8
<i>Lissotriton helveticus</i>	○								1
<i>Triturus marmoratus</i>	○								1
TOTAL D'ESPÈCIES	9	6	5	3	6	4	5	8	

D'altra banda, les abundàncies detectades per a les diferents espècies es defineixen als gràfics següents on es pot veure que *P. perezzi* i *H. meridionalis* són les dues espècies més abundants pel que fa a la fase adulta, seguides d'*E. calamita* i *D. pictus* respectivament (Figura 2). En general, els gripaus són els que s'han detectat més nombre de capgrossos, éssent *P. cultripes* l'espècie més representada, seguida de la granota verda (*P. perezzi*) i de *B. spinosus* i *E. calamita* (Figura 3). En tres espècies, granota pintada (Dpi), gripau corredor (Eca) i reineta (Hme), s'han trobat metamòrfics com es pot observar a la darrera gràfica de la Figura 4.

Presència de *Batrachochytrium dendrobatidis* al PNAE

En total es van obtenir 25 mostres (de mucus i de teixits) per a la valoració de quitridiomicosi al PNAE. Aquestes mostres s'han pres íntegrament a la RNI1, al llarg dels tres mesos.

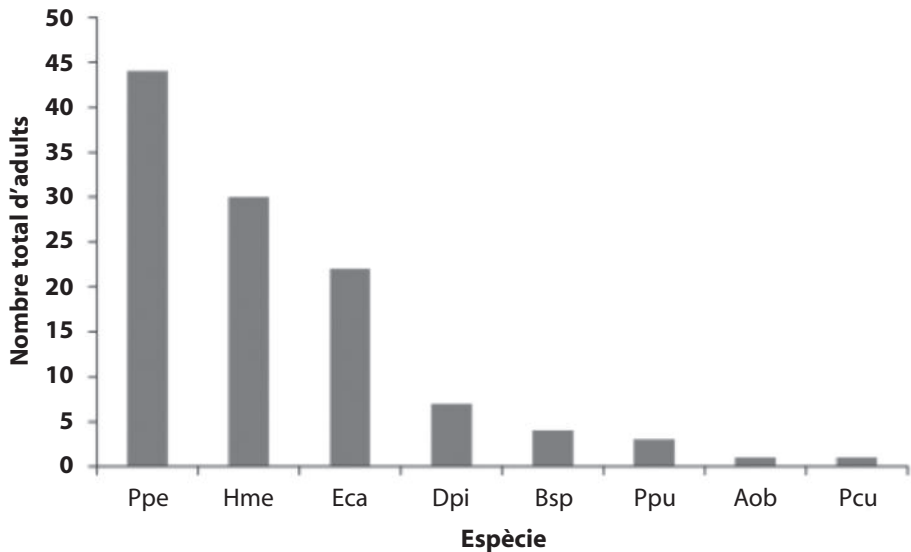


Figura 2. Nombre total d'adults detectats durant tot l'estudi, per a cadascuna de les espècies present al Parc Natural dels Aiguamolls de l'Empordà. Reineta (*Hyla meridionalis* - Hme), Granota verda (*Pelophylax perezzi* - Ppe), Gripau corredor (*Epidalea calamita* - Eca), Granota pintada (*Discoglossus pictus* - Dpi), Gripau comú (*Bufo spinosus* - Bsp), Granoteta de punts (*Pelodytes punctatus* - Ppu), Tòtil (*Alytes obstetricans* - Aob), Gripau d'esperons (*Pelobates cultripes* - Pcu).

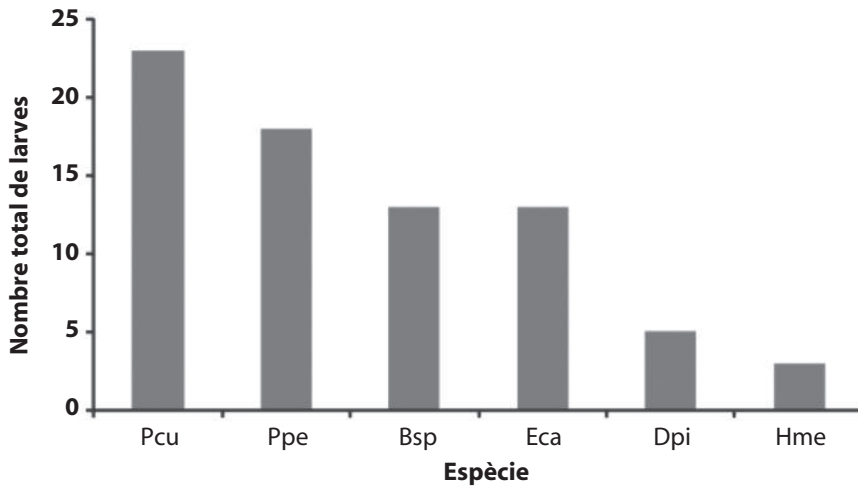


Figura 3. Nombre total de larves detectades durant tot l'estudi, per a cadascuna de les espècies present al Parc Natural dels Aiguamolls de l'Empordà. Gripau comú (*Bufo spinosus* - Bsp), *Granota pintada* (*Discoglossus pictus* - Dpi), *Gripau corredor* (*Epidalea calamita* - Eca), *Reineta* (*Hyla meridionalis* - Hme), *Gripau d'esperons* (*Pelobates cultripes* - Pcu), *Granota verda* (*Pelophylax perezii* - Ppe).

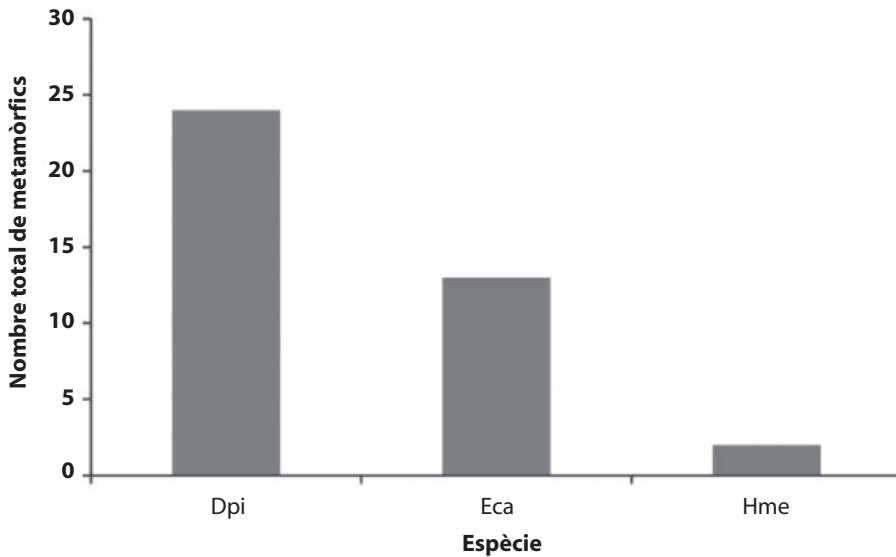


Figura 4. Nombre total de metamòrfics detectats durant tot l'estudi, per a cadascuna de les espècies present al Parc Natural dels Aiguamolls de l'Empordà. *Granota pintada* (*Discoglossus pictus* -Dpi), *Gripau corredor* (*Epidalea calamita* - Eca), *Reineta* (*Hyla meridionalis* - Hme).

Les espècies mostrejades amb hisops van ser *Hyla meridionalis* (n=13), *Epidalea calamita* (n=3), *Pelophylax perezi* (n=2), *Bufo spinosus* (n=2), *Pelobates cultripes* (n=1) i *Discoglossus pictus* (n=4). Totes elles es van processar amb la tècnica de rt-PCR a Madrid al laboratori del CSIC. Tan sols un exemplar de *Discoglossus pictus* mostrejat a l'abril a l'estació 8A, el Clot de les Guatlles, ha donat positiu al fong Bd, és a dir, segons aquests resultats, el fong Bd és present en un 4%, i només en una espècie que és considerada exòtica i invasora al nostre país (García-Berthou 2004).

Caracterització meteorològica, fisicoquímica i biològica de les masses d'aigua

Caracterització meteorològica

Es van recopilar les dades de temperatures màximes i mínimes, així com d'humitat relativa a primera hora del matí i al migdia, preses a un punt central a l'estació meteorològica del PNAE, situada al Cortalet (al costat del centre d'informació del PNAE, i integrada en la xarxa de l'Agència Estatal de Meteorologia). L'any 2015 la humitat relativa va anar augmentant des del febrer fins arribar a l'abril amb un màxim d'humitat i al maig va començar a disminuir (Taula 5). Les temperatures van anar augmentant progressivament al llarg dels mesos d'estudi, amb una oscil·lació entre la mínima del febrer de -4°C i la màxima del mes de maig de 29,4°C.

Taula 5. Dades climatològiques recollides a l'Estació Meteorològica del Cortalet l'any 2015. Font: Xarxa de l'Agència Estatal de Meteorologia.

	Febrer	Març	Abril	Maig
HUMITAT RELATIVA				
Valor mitjà (8 h)	68%	78,40%	82,40%	70,40%
Valor mitjà (13 h)	50%	62,70%	62,90%	56,70%
TEMPERATURA DE L'AIRE				
Valor màxim	17,2°C	23,6°C	25,4°C	29,4°C
Valor mitjà del valor màxim diari	13,5°C	17,5°C	21,6°C	25,5°C
Valor mínim	-4°C	0°C	0,2°C	7,6°C
Valor mitjà del valor mínim diari	2°C	6,2°C	7,1°C	12,1°C
mitjana de les mitjanes	7,7°C	11,9°C	14,4°C	18,8°C

A la taula 6, es mostren les dades meteorològiques per a cada zona de mostreig. Es pot observar com els punts 1, 2 i 3 (01- Meandres de l'Armentera 02- Estanys del Matà 03- Les Molleroses, el Cortalet) són els que van presentar temperatures de l'aire i de l'aigua més altes alhora que també són els que van presentar les humitats relatives més elevades, pel que fa a la mitjana. En general, s'observa que la RNI₂ (sud) manté temperatures i humitat relativa més elevada que la RNI₁ (nord). Per motius logístics, les dades del febrer i de la zona 6 no es varen poder obtenir.

Caracterització fisicoquímica

Pel que fa als paràmetres fisicoquímics, al juny es van prendre mesures de temperatura, pH, conductivitat i oxigen dissolt en l'aigua amb la col·laboració de l'equip del Cos d'Agents Rurals de l'Alt Empordà (Taula 7).

D'altra banda, també es van caracteritzar qualitativament les estacions de mostreig seguint el protocol del SAC. És a dir, es va descriure el tipus d'ambient, l'estabilitat de l'aigua, la profunditat de l'aigua, la connectivitat, el substrat, les dades del biòtop proper i general, i la vegetació emergida i del recobriment de riba.

Caracterització biològica

Les comunitats d'invertebrats tenen un paper clau en la conservació de les poblacions d'amfibis, principalment per dos motius: perquè són la base de la seva alimentació i perquè també poden ser importants depredadors.

En tots els punts de mostreig, es varen detectar invertebrats de menys de 20 mm, com per exemple ostràcodes o copèpodes. En nou estacions, es van trobar invertebrats majors de 20 mm, com per exemple el cranc roig americà (*Procambarus clarkii*), espècie introduïda amb greus efectes negatius sobre les poblacions d'amfibis (Gutiérrez-Yurrita, 1998; Carreira *et al.*, 2014) (Taula 8).

A més, en tots els punts d'aigua estudiats s'ha trobat alguna espècie de vertebrat que pot depredar, potencialment, els amfibis. Del grup dels mamífers en destaquem la presència de llúdriga (*Lutra lutra*) en dos dels punts, als meandres de l'Armentera RNI₂ i les Garrigues² RNI₁, on es van trobar rastres com latrines, excrements i restes de gripaus depredats. També es van detectar visons americans (*Neovison vison*) a la bassa 8A i 01. Del grup

Taula 6. Temperatura ambiental de l'aigua i humitat relativa mensual de les estacions de mostreig.

N.º	Mitjana mensual	Mes				Mitjana primavera
		Febrer	Març	Abril	Maig	
0	Tº Amb	–	9,3	18,8	21,3	16,5
	Tº aigua	–	10	15	19	14,7
	Hr%	–	73	66	66	68,3
1	Tº Amb	–	16,4	21	19,1	18,8
	Tº aigua	–	16	21	22	19,7
	Hr%	–	83	61	74	72,7
2	Tº Amb	–	14,3	19,4	22,5	18,7
	Tº aigua	–	16,5	23	21	20,2
	Hr%	–	80	67	70	72,3
3	Tº Amb	–	15,4	19,8	20,7	18,6
	Tº aigua	–	17	20	16,5	17,8
	Hr%	–	79	74	72	75,0
4	Tº Amb	–	13,9	18,9	19,1	17,3
	Tº aigua	–	13	20	17,5	17,0
	Hr%	–	87	72	86	81,7
10	Tº Amb	–	10,9	17,5	–	13,5
	Tº aigua	–	7,8	14,0	–	8,8
	Hr%	–	55,0	74,0	–	64,5
7A	Tº Amb	–	8,7	15,5	17,9	14,7
	Tº aigua	–	9,2	19,3	18,0	14,5
	Hr%	90,0	50,0	75,7	43,7	59,8
7B	Tº Amb	–	10,5	14,8	16,8	14,4
	Tº aigua	–	8,2	17,0	17,6	13,4
	Hr%	90,0	53,7	87,0	50,3	64,0
7C	Tº Amb	–	11,9	–	–	11,9
	Tº aigua	–	8,0	–	–	8,0
	Hr%	–	53,0	–	–	53,0
8A	Tº Amb	–	10,5	14,9	16,8	14,1
	Tº aigua	–	9,2	15,5	15,4	12,8
	Hr%	–	60,0	79,3	45,7	61,9
8B	Tº Amb	–	9,3	15,4	17,2	13,3
	Tº aigua	–	7,75	17	16,4	13,0
	Hr%	–	64	85	43	64,0
Mitjana total - Tº Amb			11,1	16,7	18,2	15,1
Mitjana total - Tº aigua			9,3	18,2	17,3	13,9
Mitjana total - Hr%		90,0	62,4	76,3	54,6	65,5

Taula 7. Valors dels paràmetres fisicoquímics de l'aigua de tres dels punts de mostreig de la RNI 2. La conductivitat està mesurada en μS , la Temperatura en $^{\circ}\text{C}$, i la concentració d'oxigen en mg/L .

	Data	Conductivitat	Ph	T ^a	[O ₂]
8B. Bassa Rodona de Vilaüt	26/06/2015	4.030	8,4	27,7	14,75
7A. Bassa de les Garrigues 2	26/06/2015	884	8,16	26,8	6,85
7B. Bassa de les Garrigues 3	26/06/2015	4.380	7,9	27,1	5,05

Taula 8. Tipus i presència d'espècies d'invertebrats (alimentació i predació) i vertebrats depredadors als diferents punts de mostreig. Codi de depredadors: 1= invertebrats <20 mm. 2= invertebrats >20 mm. 3= vertebrats. X= detectat un dia. XX= detectat dos dies. XXX= detectat tres dies o més.

	Tipus d'invertebrats i vertebrats detectats	Cranc de riu americà	Gambúsia	Tortuga de Florida
		<i>Procambarus clarkii</i>	<i>Gambusia holbrookii</i>	<i>Trachemys scripta</i>
00. Cinc Claus	1,2,3	x	x	
01. Meandres de l'Armentera	1,2,3	xx	xx	
02. Estanys del Matà	1,3		x	
03. Les Molleroses, el Cortalet	1,2,3			
04. Arrossars de la Gallinera	1,2,3	x	xx	
06. El Tec*	1,3			
7A. Bassa de les Garrigues 2	1,2,3	xxx	xxx	xxx
7B. Bassa de les Garrigues 3	1,2,3	xxx		x
7C. Rec del Mas de la Torre				
8A. Bassa del Clot de les Guatlles	1,2,3	xxx		
8B. Bassa rodona de Vilaüt	1,2,3	xxx	xxx	
10. Rec de Torre Mornau	1,2,3	xxx		

*Estació que es va prospectar només al mes de febrer i es va eliminar de l'estudi per ser massa salobre.

dels peixos en destaquem dues espècies: l'espínós (*Gasterosteus aculeatus*), ja que és un peix protegit que es va trobar a la bassa rodona de Vilaüt (8B) i és el primer cop que se cita en aquesta localitat, i la gambúsia (*Gambusia holbrookii*), ja que és una espècie al·lòctona, invasora i àmpliament distribuïda. Aquesta presenta un gran potencial depredador sobre les larves i postes d'amfibis i es va detectar de manera abundant als punts prospectats (Taula 8). Pel que fa als rèptils, s'han trobat espècies autòctones com serps de collar i d'aigua (*Natrix natrix* i *Natrix maura*), així com també espècies al·lòctones invasores com la tortuga de Florida (*Trachemys sp.*) especialment abundants (n=32) al punt de mostreig de les Garrigues 2.

Del grup de les aus es van detectar diverses espècies que també poden ser potencialment depredadores d'amfibis (Toledo *et al.*, 2007) com per exemple: cames llargues (*Himantopus himantopus*), bernats pescaires (*Ardea cinerea*), cigonyes (*Ciconia ciconia*), martinets blancs (*Egretta garzetta*), agrons blancs (*Ardea alba*), fotges (*Fulica atra*), grues (*Grus grus*), ànecs collverd (*Anas platyrhynchos*) (Nöllert i Nöllert, 1995) i blauets (*Alcedo atthis*).

DISCUSSIÓ

Aquest estudi ha permès detectar per primera vegada, des del 1971-81, les set espècies d'anurs descrites al PNAE, en un sol any de mostreig. Així doncs, podem afirmar que la metodologia utilitzada en aquest estudi ha estat molt eficaç ja que es van detectar totes les espècies que potencialment s'esperava que poguessin ser presents als Aiguamolls de l'Empordà.

Climatològicament, els punts amb temperatura i humitat més elevats es troben a la RNI2, són el 01 i el 03. Per tant, potencialment, aquestes dues zones podrien ser les més adequades, des del punt de vista meteorològic, per a la presència d'amfibis. Ara bé, cal recordar que aquesta és només una característica i que caldria també mirar altres particularitats edàfiques, ecològiques i humanes per poder tenir informació fiable sobre quines són les zones més idònies per a l'establiment de poblacions viables d'amfibis. Cal dir que tot i la baixa valoració de l'estat ecològic dels punts d'aigua mostrejats, en gairebé tots ells (a excepció del punt 10) s'han trobat com a mínim dues espècies d'anurs convivint al mateix indret. En el cas de les Molleroses, el Cortalet (03) de la RNI2 i de les Garrigues 3 (7B) de la RNI1 es van trobar fins a sis espècies al mateix punt d'aigua.

No obstant això, no ha estat possible detectar cap exemplar de *Triturus marmoratus* ni de cap altra espècie d'urodel. Tot i no poder concloure que no

existeixi cap individu de tritó verd a la zona d'estudi, cal tenir en compte que la metodologia es va dissenyar específicament per a la detecció d'urodels, transecte nocturn, i *funnel traps* en les zones on naturalistes i herpetòlegs ens havien dit que s'hi havia vist tritó verd. Per tant, en cas que *T. marmoratus* o *L. helveticus* siguin presents al PNAE, sembla que hi són amb poca abundància i la seva detecció no és fàcil. Les últimes citacions de *T. marmoratus*, inèdites i fruit de comunicacions personals, han estat a l'interior de pous de reg abandonats. Durant aquest estudi, també es varen prospectar una vintena d'aquests pous i no es va localitzar cap individu d'urodel. D'altra banda, es té constància que *T. marmoratus* es trobava en zones circumdants al PNAE. Cal denotar que l'única cita publicada de *T. marmoratus* (Bea *et al.*, 1994) es va fer fora del PNAE, concretament a zones properes als municipis de Torroella de Fluvià, Fortià i Pau. Per tant, una línia d'investigació futura recomanada és la prospecció de zones humides de Vilaüt i Mornau i també de zones circumdants al parc natural on es té constància de la seva presència. El patró d'estudi de *L. helveticus* ha estat i hauria de ser el mateix que el plantejat per a *T. marmoratus*, tot i que per a aquesta espècie no es coneixen cites inèdites recents, tan sols existeix la cita de Bea *et al.*, (1994) també fora dels límits del PNAE.

Del grup dels anurs, hi ha tres espècies molt ben representades al llarg dels anys, *H. meridionalis*, *P. perezi* i *E. calamita*, detectades en tots els estudis d'amfibics realitzats al PNAE (Bea *et al.*, 1994; Fèlix i Marqués, 1985; Garrigós, 2004, 2005 i 2006; Garrigós i Mañé, 2007, 2008). Tant *P. perezi* com *H. meridionalis* són les espècies amb més nombre d'adults detectats, amb molta diferència respecte a la resta d'espècies. Això pot ser a causa dels seus hàbits de conducta, més diürns que altres amfibis i amb menys capacitat d'amagar-se (Martínez-Martínez, 2014), cosa que facilita la seva detectabilitat. Cal afegir també que aquestes tres espècies en concret, *H. meridionalis*, *P. perezi* i *E. calamita*, presenten un cant molt sonor i formen cors molt abundants en èpoques d'aparellament, cosa que les fa fàcilment detectables en censos auditius. A més, aquest fet també pot disminuir la detectabilitat d'altres espècies de cant més discret com per exemple *B. spinosus* (Garrigós i Mañé, 2008).

En aquest treball, es va poder seguir tot el cicle reproductiu de l'*E. calamita*: es van escoltar cants, detectar acoblaments sexuals, postes, capgrossos i metamòrfics, sovint convivint en el mateix indret diferents fases de desenvolupament, com per exemple a Vilaüt o les Molleroses. A diferència d'altres anys (Garrigós, 2004, 2005, 2006) no es va detectar gripau corredor als Arrossars de la Gallinera, aquest fet pot ser a causa que

els mostrejos es van realitzar amb els arrossars secs, i la presència d'*E. calamita* està íntimament relacionada amb la inundació d'aquests cultius.

Pel que fa al tòtil (*A. obstetricans*), ha estat històricament una espècie molt rara a la comarca (Polls, 1985) i absent al PNAE, només amb la cita d'algun individu aïllat a prop de la desembocadura de la Muga (Garrigós, 2004). Sembla que no tolera la salinitat i que les poblacions més properes han estat a alguns quilòmetres del Parc (Garrigós, 2004). Però durant el Seguiment d'Amfibis de Catalunya realitzat al PNAE durant els anys 2007 i 2008 es va detectar pel mètode auditiu en diversos punts de les RNI 1 i RNI 2. En aquest estudi es va detectar un individu pel mètode auditiu durant el mes d'abril als Estanys del Matà. Una possible explicació d'aquest fet és l'arribada d'algun exemplar de tòtil a través de plantes de viver, ja que el punt d'escolta es troba justament al costat d'un càmping. També es podria explicar per l'establiment d'alguns individus aïllats a la zona o senzillament per un error de mostreig a causa de l'elevat índex de so (tipus 2 segons metodologia SAC) existent durant la nit de la prospecció. En tot cas, calen més estudis per poder corroborar la presència d'*A. obstetricans* dins del PNAE.

Un altre resultat interessant són les cites de *P. cultripes*, *P. punctatus* i *B. spinosus*, que no eren detectats al PNAE des del 2006. Vàrem localitzar diversos exemplars adults de *B. spinosus* a les dues grans zones estudiades del PNAE. Concretament, a la bassa de les Garrigues 2, es va poder fer el seguiment del seu cycle vital en trobar els adults reproductors, les restes d'aquests després d'ésser depredats, les seves postes embrionades, l'eclosió dels ous i els cap-grossos. Pel que fa a *P. punctatus* tan sols es va poder detectar en la seva fase adulta, i en poca abundància. Tot i haver-se trobat tant a la RNI 1 com a la 2, només s'ha detectat en dos punts d'aigua, per tant és necessari recopilar-ne més informació, ja que és una de les espècies més desconegudes del Parc (Carrera, 1999).

D'altra banda, *P. cultripes* va mostrar nivells d'abundància molt més elevats dels esperats en la seva fase larvària, essent l'espècie amb més capgrossos capturats. Es va localitzar en quatre punts de mostreig de la RNI1 i es va trobar un individu adult a la zona de Vilaüt (8B), lloc on també es va detectar per cants. Aquestes troballes prenen especial rellevància, ja que *P. cultripes* era l'espècie que estava en un grau més precari de coneixement dins del PNAE (Carrera, 1999) i segons Martínez-Martínez (2014) s'ha proposat la catalogació del gripau d'esperons com a espècie "Vulnerable" en el Catàleg de Fauna Amenaçada de Catalunya. Per tant, el coneixement d'aquestes poblacions trobades a la RNI1 és de gran importància, i en un futur, una línia de recerca interessant per aquesta

espècie podria ser sobre el comportament i l'ecologia de l'aparellament, per tal de poder fer un cens d'adults més específic per a aquesta espècie.

Discoglossus pictus es va trobar distribuïda en quatre localitats de mostreig de la RNI1 i en dos de la RNI2, en total en sis localitats i en totes les fases del seu cicle vital. A més, és l'espècie de la qual s'han trobat més metamòrfics. Aquesta espècie introduïda entre principis i mitjans del segle passat, es va expandir pel PNAE entre la dècada dels 60 als 80 (Montori *et al.*, 2007).

És important el fet que aquesta és l'única espècie en la qual s'ha detectat la presència del fong *Bd*. De les 25 mostres cutànies, només una provinent d'un exemplar adult de *D. pictus* capturat al Clot de les Guatilles (8A) a la part nord del PNAE (polígon RNI1), s'ha trobat positiva al fong *Bd*. En aquesta zona (8A), s'havien pres mostres de tres exemplars, i en els diferents punts del polígon RNI1 s'havien mostregat un total de quatre *D. pictus*. Un problema habitual en els estudis realitzats amb fauna salvatge és la diferent probabilitat de capturar animals malalts de sans a causa dels canvis de comportament. Això pot ser un motiu per no trobar positius i s'ha de tenir en compte al moment de fer una aproximació de la prevalença de qualsevol malaltia. De totes maneres són necessaris més estudis amb un nombre elevat d'animals mostregats per fer-nos una idea de la distribució d'aquest fong al PNAE.

Tot i haver detectat aquest positiu de *D. pictus* a *Bd*, ni aquest exemplar ni cap dels animals mostregats presentava cap signe de malaltia. Actualment, hi ha un corrent de l'opinió que el fong es troba de manera ubiqua (Courtois, 2015) i que arriba a afectar els amfibis immunodeprimits o sota condicions d'estrès. A més, sembla que en un estudi que s'està realitzant actualment sobre *Bd*, s'han trobat altres positius en *D. pictus* en zones properes (Bosch, 2015; observació personal). Això ens fa plantejar el tipus de rol que agafa aquesta espècie en el cicle de la malaltia, ja sigui com a hoste definitiu o com a portador del fong. De fet altres espècies exòtiques com la *X. laevis* s'han descrit com a vectors de la malaltia (Weldon *et al.*, 2004) o *R. catesbeiana* com a portadora assintomàtica (Bai *et al.*, 2010). Com sigui, aquesta troballa ens suggereix que aquesta espècie introduïda podria jugar un paper important en l'epidemiologia de la malaltia al PNAE. En aquest sentit cal tenir en compte que *D. pictus* s'ha detectat compartint hàbitat amb totes les espècies d'amfibis descrites en aquest estudi.

Sembla que *B. dendrobatidis* pot viure a temperatures compreses entre els 4-25 °C, i que el seu rang òptim de creixement és a temperatures entre 17-25 °C. (Piotrowsky, 2004). Pot mantenir-se com a paràsit i

possiblement com a sapròfit, però pot desencadenar la mort de l'hoste durant les baixes temperatures d'hivern (Daszak, 2003). La temperatura de l'aigua de la Bassa del Clot de les Guatlles s'ha mantingut entre els 9-16 °C (temperatura molt semblant a la resta de punts d'aigua de la RN11). Aquest punt d'aigua a l'estiu s'asseca totalment. La temporalitat d'aquesta bassa 8A, junt amb les altes temperatures estivals de la zona, són dos factors que poden ajudar a mantenir sota control el fong Bd, el qual sembla que no resisteix les temperatures superiors als 30 °C (Piotrowsky, 2004).

Un altre factor a tenir en compte és l'activitat ramadera i turística (indret visitable del PNAE) que es desenvolupa en aquest punt de mostreig (8A), fet que podria jugar un paper important en la disseminació del Bd a altres zones. En el mateix sentit, un fet remarcable és la utilització d'aquest punt d'aigua per gran varietat de fauna com són les aus, els senglars (*Sus scrofa*), els mustèlids i els rosegadors.

A més de la quitridiomicosi, altres factors de risc per a les poblacions amfibiques s'han fet palesos durant l'estudi com ara el grau d'eutrofització de les aigües, la circulació viària o la presència d'espècies depredadores. En l'últim cas, és especialment preocupant l'abundància d'espècies al·lòctones com el cranc roig americà (*P. clarkii*) i la gambúsia (*G. holbrooki*).

Podem concloure, doncs, que per tal de fer una gestió encarada a la millora de la conservació de les poblacions i la diversitat d'amfibis seria adequat fer un estudi sobre quins ambients i hàbitats resulten més adequats per a aquest grup d'animals dins del PNAE, tenint en compte factors ambientals com la presència de depredadors invasors, contaminació o altres pressions d'activitats humanes com l'agricultura o la ramaderia.

CONCLUSIONS

– Després de 36 anys, als Aiguamolls de l'Empordà s'hi continuen trobant les set espècies d'anurs descrites anteriorment: *H. meridionalis*, *E. calamita*, *P. perezi*, *D. pictus*, *B. spinosus*, *P. cultripes*, *P. punctatus* i rarament algun exemplar de *A. obstetricans*. Ara bé, caldria informació poblacional més detallada per tal de poder constatar l'estat de conservació de les poblacions d'aquestes espècies.

– Per a la majoria de totes aquestes espècies s'han detectat fases larvàries, excepte per a *P. punctatus* i *A. obstetricans*. Per tant, sembla que totes elles presenten reproducció a la zona d'estudi.

– *P. perezi*, *H. meridionalis* i *E. calamita* han estat les espècies més detectades en la seva fase adulta, mentre que en la fase larvària ho són *P. cultripès* i *P. perezi*.

– Tenen especial importància les troballes de les poblacions de *P. cultripès* en quatre punts de la RNI₁ i de *P. punctatus* en dos punts situats un a cada RNI, ja que fins a l'actualitat són dues espècies amb un baix grau de coneixement dins el PNAE.

– No s'ha detectat cap espècie d'urodel en cap de les seves fases vitals durant el mostreig i, per tant, no podem corroborar l'existència de *T. marmoratus* al PNAE actualment.

– D'altra banda, el fong *Bd* tan sols s'ha trobat en un adult de *D. pictus*, suggerint que aquesta espècie introduïda podria ser portadora de la malaltia al PNAE.

– Aquest treball ha permès treballar aspectes d'educació ambiental amb un gran equip de voluntaris i cap a la societat. Gràcies a aquest projecte, s'ha creat una web i diversos comunicats de premsa que han permès contribuir a promoure l'estat de conservació global dels amfibis així com la importància de la seva conservació a escala global i local.

AGRAÏMENTS

Voldríem agrair la participació de tots i totes les voluntàries que han fet possible aquest treball. Especialment a Marta Ball-llosera, tècnica de l'IAEDEN i còmplice de la realització de l'estudi. Concretament, a tots aquells qui ens han ajudat durant les feines de treball de camp: Júlia Morales, Arnau Morales i Pol Aumedes; Joan M. Baqués, Jordi Arrey, Gemma Hurtado i Marc Rovira; Berto Minobis, Mireia J. Monegal, Vony Droussie Burlet i Jorge García; Marina Fernández, Maria Josep Puyol i Sandra Calduch; Iago Pérez i Tamara Aragón; Alejandro García i David Ibáñez. D'altra banda, també voldríem donar les gràcies a naturalistes i científics que ens han ajudat en l'assessorament de dubtes metodològics, mostres, determinació de zones d'estudi i identificació de larves: Albert Montori, Iago Pérez, Jaime Bosch, Hugo Fernández, Fèlix Amat i a tot l'equip del Servei de Control de Mosquits (Eduard Marquès, Àlex Oller i Ricard de la Barrera), Jordi Martí, Jordi Sargatal i David Carreras.

També voldríem agrair a la IAEDEN (Institució Altempordanesa per a la Defensa i l'Estudi de la Natura) i el Centre de Fauna dels Aiguamolls de l'Empordà el seu acompanyament en tot moment. Al PNAE, per la facilitat

amb la que hem pogut treballar al camp, per la cessió de dades bibliogràfiques i meteorològiques, i la confiança que han dipositat en nosaltres. Gràcies també al Cos d'Agents Rurals per la seva col·laboració amb els mostresjos i la realització de cartografia SIG.

Per últim, aquest treball no hauria estat possible sense la Fundació del Zoo de Barcelona, que va ser qui va atorgar-nos una beca amb finançament i qui sempre ha dipositat tota la confiança en el nostre treball i la recerca que realitzem per a la conservació dels amfibis al PNAE.

BIBLIOGRAFIA

- BAI, C.; GARNER, T. W.; LI, Y., "First evidence of *Batrachochytrium dendrobatidis* in China: discovery of chytridiomycosis in introduced American bullfrogs and native amphibian in the Yunnan Province, China", *Dis. Aqua. Org.*, (2010), 92: 241-244.
- BEA, A.; MONTORI, A.; PASCUAL, X., "Herpetofauna dels Aiguamolls de l'Empordà". A: Gosàlbez, J., Serra, J. & Velasco, E. (Coord.): *Els sistemes Naturals dels Aiguamolls de l'Empordà*. (1994), *Treb. Ins. Cat. Hist. Nat.*, 13, p. 359-407.
- BERGER, L.; SPEARE, R.; DASZAK, P., "Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forest of Australia and Central America", *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America*, 95, (1998), 15.
- BIELBY, J.; COOPER, N.; CUNNINGHAM, A.A.; GARNER, T.W.J.; PURVIS, A., "Predicting susceptibility to future declines in the world's frogs", *Conserv Lett*, (2008), 1: 82-90.
- BOSCH, J.; MARTÍNEZ-SOLANO, I., "Chytrid fungus infection related to unusual mortalities of *Salamandra salamandra* and *Bufo bufo*, in the Peñalara National Park, Spain", *Oryx*, (2006), 40, 84-89.
- BOYLE, D.G.; BOYLE D.B.; OLSEN, V.; MORGAN, J.A.T.; HYATT, A.D., "Rapid quantitative detection of chytridiomycosis (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in amphibian samples using real-time Taqman PCR assay", *Diseases of Aquatic Organisms*, (2004), 60, 141-148.
- BREM, F.M.; LIPS, K.R., "*Batrachochytrium dendrobatidis* infection patterns among Panamanian amphibian species, habitats and elevations during epizootic and enzootic", *Dis Aquat Organ*, (2008), 81:189-202. doi:10.3354/dao01960.
- BRUNNER, J.L.; SCHOCK, D.M.; DAVIDSON, E.W.; COLLINS, J.P., "Intraspecific reservoirs: complex life history and the persistence of a lethal ranavirus" *Ecology*, (2004), 85:560-566.
- CAREY, C.; BRUZGUL, J. E.; LIVO, L. J.; WALLING, M. L.; KUEHL, K. A.; DIXON, B. F.; PESSIER, A. P.; ALFORD, R. A.; AND ROGERS, K. B., "Experimental exposures of boreal toads (*Bufo boreas*) to a pathogenic chytrid fungus (*Batrachochytrium dendrobatidis*)" *Ecohealth*, (2006), 3:5-21.

- CARREIRA, B.M.; DIAS, M.P.; REBELO, R., "How consumption and fragmentation of macrophytes by the invasive crayfish *Procambarus clarkii* shape the macrophyte communities of temporary ponds", *Hydrobiologia*, (2014), 721:89-98 DOI 10.1007/s10750-013-1651-1.
- CARRERA, D., "Els amfibis del Parc Natural dels Aiguamolls de l'Empordà: bioindicació i anàlisi ambiental", *Projecte final de Llicenciatura en Ciències Ambientals, UAB, Bellaterra*, 1999.
- COURTOIS, E.A.; GAUCHER, P.; CHAVE, J.; SCHMELLER, D.S., "Widespread occurrence of Bd in French Guiana. South America". *PLoS ONE*, (2015), 10(4).
- DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A.A.; HYATT, A.D., "Infection disease and amphibian population declines" *Divers. Distrib.*, (2003), 9: 141-150.
- EAZA Executive Office, "Amphibian Alarm EAZA: Year of the Frog Campaign 2007-2008", 2010.
- FELIX, J. I MARQUÉS, E., "Els culícids (Díptera, Culicidae) en la dieta dels anurs (Amphibia, Anura). Distribució, estatus i ecologia tròfica dels amfibis en els espais protegits dels Aiguamolls de l'Empordà (R11)". Informe inèdit. Servei de Control de Mosquits de la Badia de Roses i de Baix Ter, 1985.
- FEO, C.; FRANCH, M.; BOIX, D., "Seguiment de poblacions d'Amfibis. Informe final 2005-2008". *Technical Report for the Life 04NAT/ES/000059*, (2009), 49 p.
- FISHER, M.C.; GARNER, T. W.; WALKER, S. F., "Global emergence of *Batrachochytrium dendrobatidis* and amphibian chytridiomycosis in space, time and host", *Annual Review of Microbiology*, (2009), 63, 291-310.
- GARCIA-BERTHOU, E., <http://invasiber.org/> 2002.
- GARRIGÓS, B., *Informe de l'estat de les poblacions d'amfibis del Parc Natural dels Aiguamolls de l'Empordà 2004*, Informe tècnic, 2004.
- GARRIGÓS, B., *Informe de l'estat del seguiment de les poblacions d'amfibis del Parc Natural dels Aiguamolls de l'Empordà 2005*, Informe tècnic, 2005.
- GARRIGÓS, B., *Informe de l'estat del seguiment de les poblacions d'amfibis del Parc Natural dels Aiguamolls de l'Empordà 2006*, Informe tècnic, 2006.
- GARRIGÓS, B.; MAÑÉ, T., *Informe de l'estat del seguiment de les poblacions d'amfibis del Parc Natural dels Aiguamolls de l'Empordà 2007*, Informe tècnic, 2007.
- GARRIGÓS, B.; MAÑÉ, T., *Informe de l'estat del seguiment de les poblacions d'amfibis del Parc Natural dels Aiguamolls de l'Empordà any 2008*, Informe tècnic, 2008.
- GRIFFITHS, RA; RAPER S.J.; BRADY, L.D., "Evaluation of a standard method for surveying common frogs (*Rana temporaria*) and newts (*Triturus cristatus*, *T. helveticus* and *T. vulgaris*)", Joint Nature Conservation Committee, Peterborough *JNCC Report*, (1996), No. 259.
- GUTIÉRREZ-YURRITA, P.J.; SANCHO, G.; BRAVO, M.A., BALTANÁS, A.; MONTES, C., "Diet of the red swamp crayfish *Procambarus clarkii* in natural ecosystems of the Doñana National Park temporary fresh-water marsh (Spain)." *J. Crustacean Biol.*, (1998), 18:120-127.

- HIDALGO-VILA, J.; DÍAZ-PANIAGUA, C.; MARCHAND, A.M.; CUNNINGHAM, A.A., “*Batrachochytrium dendrobatidis* infection of amphibians in the Doñana National Park, Spain”, *Diseases of aquatic microorganisms*, (2012), 98, 113-119.
- HYATT, A.D.; BOYLE, D.G.; OLSEN, V.; BOYLE, D.B., Diagnostic assays and sampling protocols for the detection of *Batrachochytrium dendrobatidis*”, *Diseases of Aquatic organisms*, (2007), 73, 175-192.
- LIPS, K.R.; BREM, F.; BRENES, R.; REEVE, J. D.; ALFORD, R.A.; VOYLES, J.; CAREY, C.; LIVO, L.; PESSIER, A P.; COLLINS, J. P., “Emerging infectious disease and the loss of biodiversity in a Neotropical amphibian community”, *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*, (2006), 103, 3165-3170.
- LONGCORE, J.R.; LONGCORE, J.E.; PESSIER, A.P.; HALTEMAN, A., “Chytridiomycosis widespread in anurans of northeastern United States”, *Journal of Wildlife Management*, (2007), 71, 435-444.
- MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, D., “Els Amfibis: biologia, etologia i reconeixement d’espècies”, Programa de Formació del DAMM, 2014.
- MONTORI, A.; LLORENTE, G.A.; RICHTER-BOIX, A.; VILLERO, D.; FRANCH, M.; GARRIGA, N., “Colonización y efectos potenciales de la especie invasora *Discoglossus pictus* sobre las especies nativas”, *Munibe*, (2007), 25, 14-27.
- MURRAY, K.A.; SKERRATT, L.F.; SPEARE, R.; MCCALLUM, H., “Impact and dynamics of disease in species threatened by the amphibian chytrid fungus, *Batrachochytrium dendrobatidis*”, *Conserv Biol*, (2009), 23, 1242-1252.
- NÖLLERT, A.; NÖLLERT, C., *Los amfibios de Europa. Identificación, amenazas, protección*. Omega, Barcelona, 1995.
- OBÓN, E.; CARBONELL, F.; VALBUENA-UREÑA, E.; ALONSO, M.; LARIOS, R.; FERNÁNDEZ-BEAZCOETXEA, S.; FISHER, M.C.; BOSCH, J., “Chytridiomycosis surveillance in the critically endangered Montseny brook newt, *Calotriton arnoldi*, northeastern Spain”, *Herpetological Journal*, (2013), 23, 237-240.
- OUELLET, M.; MIKAELIAN, I.; PAULI, B.D.; RODRIGUEZ, J.; GREEN D.M., “Historical evidence of widespread chytrid infection in North American amphibian populations”, *Conservation Biology*, (2005), 19, 1431-1440.
- PIOTROWSKI, J.S.; ANNIS, S.L.; LONGCORE, J.E., “Physiology of *Batrachochytrium dendrobatidis*, a chytrid pathogen of amphibians”, *Mycologia*, (2004), 96, 9-15.
- POLLS, M., “La herpetofauna del Alto Ampurdán I. Faunística”. *Mis. Zool.*, (1985), 9: 295-314.
- RETALICK, R.W.R.; MCCALLUM, H.; SPEARE, R., “Endemic infection of the amphibian chytrid fungus in a frog community post-decline”, *PLoS Biology*, (2004), 2:e351.
- SAPSFORD, S.J., “Population and disease dynamics of the amphibian chytrid fungus in the stream-associated frog *Litoria rheocola*”, MSc thesis, James Cook University, Townsville, 2012.
- SAPSFORD, S.J.; ALFORD, R.A.; SCHWARZKOPF, L., “Elevation, temperature, and aquatic connectivity all influence the infection dynamics of the amphibian chytrid fungus in adult frogs”, *PLoS ONE*, (2013), 8:e82425. doi:10.1371/journal.pone.0082425.

- SAPSFORD, S.J.; VOORDOUW, M.J.; ALFORD, R.A.; SCHWARZKOP, L., "Infection dynamics in frog populations with different histories of decline caused by a deadly disease" *Oecologia*, (2015), 179(4): 1099-110.
- SKERRATT, L.F.; BERGER, L.; SPEARE, R., "Spread of chytridiomycosis has caused the rapid global decline and extinction of frogs", *Ecohealth*, (2007), 4, 125-134.
- STEVENSON, L.A.; ALFORD, R.A.; BELL, S.C.; ROZNIK, E.A.; BERGER, L.; PIKE, D.A., "Variation in thermal performance of a widespread pathogen, the amphibian chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*", *PLoS ONE*, (2013), 8, e73830.
- STUART, S. N.; CHANSON, J.S.; COX, N.A., "Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide", *Science*, (2004), 306, 1783-1786.
- TARRANT, J.; CILLIERS, D.; DU PREEZ, L.H.; WELDON, C., "Spatial assessment of amphibian Chytrid fungus (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in South Africa confirms endemic and widespread infection", *PLoS One*, (2013), 8 (7), e69591.
- TOLEDO, L.F.; RIBEIRO R.S.; HADDAD C.F.B., "Anurans as prey: an exploratory analysis and size relationships between predators and their prey", *Journal of Zoology*, (2007), 271 (2), 170-177.
- VOORDOUW, M.J.; ADAMA, D.; HOUSTON, B.; GOVINDARAJULU, P.; ROBINSON, J., "Prevalence of the pathogenic chytrid fungus, *Batrachochytrium dendrobatidis*, in an endangered population of northern leopard frogs, *Rana pipiens*", *BMC Ecol*, (2010), 10, 1-10.
- WALKER, S.F; BOSCH, J.; JAMES, T.Y.; LITVINSEVA, A.P., "Invasive pathogens threaten species recovery programs", *Current Biology*, (2008), 18, 853-854.
- WALKER, S.F; BOSCH, J.; GÓMEZ, V.; GARNER, T. W.J., "Factors driving pathogenicity vs. prevalence of amphibian panzooticchytridiomycosis in Iberia", *Ecology Letters*, (2010), 13, 372-382.
- WELDON, C.; DU PREEZ, L.H.; HYATT, A.D.; MULLER, R.; SPEARS, R., "Origin of the amphibian chytrid fungus", *Emerging Infect. Dis.*, (2004), 10(12), 2100-5.
- WHITFIELD, S.M.; GENTRY, L.R.; KERBY, J.; DONNELLY, M.A., "Temporal variation in infection prevalence by the amphibian chytrid fungus in three species of frogs at La Selva, Costa Rica", *Biotropica*, (2012), 44, 779-784.
- WOODHAMS, D.C.; ALFORD, R.A., "Ecology of chytridiomycosis in rainforest stream frog assemblages of tropical Queensland", *Conserv. Biol.*, (2005), 19, 1449-1459.