



Variazione di biomassa delle larve di salamandra pezzata in ambienti epigei ed ipogei

Benedetta BARZAGHI^{1*}, Roberta PENNATI¹,
Gentile Francesco FICETOLA², Raoul MANENTI¹

¹ *Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano, Via Celoria, 26, 20133 Milano, Italia.*

² *Laboratoire d'Ecologie Alpine LECA, Université Grenoble-Alpes. F-38000 Grenoble – France.*

**Corresponding author: benedetta.barzaghi@studenti.unimi.it*

Riassunto La salamandra pezzata, *Salamandra salamandra* si riproduce principalmente in ambienti epigei, ma non di rado depone le larve in ambienti ipogei. Scopo di questo studio è capire il ruolo che la salamandra pezzata svolge nei flussi di biomassa che si verificano tra ambiente acquatico e terrestre, prendendo in considerazione sia siti epigei che ipogei. Per fare ciò è stato esaminato il bilancio tra la biomassa di larve di salamandra deposte e larve di salamandra metamorfosate in 5 pozze sorgive epigee situate in zona collinare, monitorate settimanalmente da marzo ad agosto 2014, e di altri 16 siti (12 ipogei e 4 epigei) precedentemente monitorati (2013) con la stessa metodologia. Ad ogni monitoraggio tutte le larve di ogni sito sono state pesate e misurate. Il bilancio di biomassa in uscita a livello delle larve è stato ricavato per ciascuna pozza sottraendo alla somma del peso delle larve che avevano raggiunto gli stadi pre-metamorfosi la somma del peso delle larve appena deposte rinvenute nei primi passaggi. Sono inoltre state misurate luminosità, temperatura, biomassa di invertebrati predatori e biomassa di invertebrati prede. Tramite analisi con i modelli misti lineari sono stati determinati quali fattori influenzano il bilancio di biomassa distinguendo tra siti epigei e quelli ipogei. Nei siti monitorati nel corso del 2014 è stata riscontrata un'elevata densità di larve iniziale e, sebbene il tasso di mortalità sia stato notevole, in media 13,02 larve per sito hanno raggiunto la metamorfosi. Il bilancio di biomassa in uscita dalle pozze è risultato correlato positivamente alla luminosità dei siti, ed è risultato inferiore nei siti ipogei. Questi risultati evidenziano perciò come il bilancio di biomassa possa notevolmente differire in ambienti con caratteristiche ecologiche molto diverse e come esso sia generalmente negativo in siti scarsamente produttivi come possono essere gli ambienti ipogei.

Abstract The fire salamander, *Salamandra salamandra*, generally reproduces in epigeal habitats, however, cases of deposition in hypogean environments can occur. Aim of this study is to understand the role that the fire salamander plays in the biomass flows that occur among the water and terrestrial environments, taking into account both epigeal and hypogean habitats. To this extent we have examined the balance between the biomass of deposited fire salamander larvae and nearly metamorphosed ones: 5 epigeal spring pools from a hilly area placed within the districts of Como and Lecco, were weekly monitored in the period from March to August 2014, while data on other 16 sites (12 hypogean and 4 epigeal) were obtained from a previous study (2013) conducted in the same area and with the same methodology. During each monitoring we have collected weight and body size data for each larvae in every single site. The outgoing biomass balance, in terms of salamander larvae, has been obtained subtracting the sum of newborn larva weight present in each pool to the total weight of the survived larvae that reached the pre-metamorphic stage in the same pool. Moreover, brightness, temperature and biomass of invertebrate preys and predators present in each pool have been measured. Statistical analysis has been conducted using linear mixed models in order to determine which factors have influenced the biomass balance, distinguishing between epigeal and hypogean habitats. During 2014 surveys an high initial density of newborn larvae in the monitored sites has been noticed and, although the remarkable mortality rate, on average 13.02 salamander larvae, per site have successfully reached the metamorphosis. The outgoing biomass balance has been found to be positively correlated to the brightness of the site and furthermore resulted lower in the hypogean habitats. In conclusion, these results underline how biomass balance in substantially different environments, like hypogean and epigeal habitats, can be differently influenced by peculiar ecological features and how it results generally negative in scarce productive habitats such as the caves.

Introduzione

Le larve di salamandra pezzata, *Salamandra salamandra* sono di solito deposte in ruscelli poco profondi o pozze sorgive, habitat che nella quasi totalità dei casi sono caratterizzati da assenza di pesci (Lanza *et al.*, 2007). Pertanto le larve di salamandra pezzata, in assenza di larve di odonati, svolgono in questi ambienti la funzione di *top predator* e quindi si può supporre che abbiano un ruolo chiave nei flussi di energia di questi ambienti.

Studi recenti hanno confrontato popolazioni di salamandra pezzata che si riproducono in pozze temporanee (caratterizzate da una limitata produttività e disponibilità trofica) con popolazioni che si riproducono in ruscelli perenni (caratterizzati da maggior produttività e elevata disponibilità trofica) (Reinhardt *et al.*, 2013). Il confronto tra popolazioni

ha evidenziato che l'apporto di biomassa nelle pozze, fornito dalla deposizione delle larve, è maggiore della biomassa degli organismi commestibili disponibili al momento della deposizione delle larve. Inoltre, la biomassa che è deposta nelle pozze a inizio primavera è generalmente superiore rispetto alla biomassa in uscita attraverso la metamorfosi. Questi risultati hanno suggerito come la salamandra pezzata svolga una funzione chiave in ambienti poco produttivi, determinando un elevato trasferimento di biomassa da ambienti terrestri verso ambienti acquatici (Reinhardt *et al.*, 2013). Gli ambienti ipogei sono un altro esempio di ambiente poco produttivo in cui si riproduce la salamandra pezzata (Manenti *et al.*, 2011). Ciononostante, esistono pochissime informazioni sul ruolo delle larve di salamandre nel trasferimento di biomassa da e verso le zone umide ipogee.

Questo studio si pone l'obiettivo di analizzare i flussi di biomassa in ambienti radicalmente diversi tra loro in quanto a produttività, quali pozze epigee sorgive e pozze ipogee di ambienti sotterranei artificiali e naturali, esaminando i fattori che li influenzano attraverso lo studio di salamandra pezzata.

Materiali e Metodi

A partire dal mese di marzo fino alla fine di agosto 2014 sono state effettuate visite di monitoraggio con cadenza settimanale in 5 pozze epigee presenti nell'area della provincia di Lecco (Monte Barro, Civate e Campsirago), per un totale di 24 rilevamenti (per sito). Tali dati sono stati inseriti in un database che comprende altri 16 siti (12 ipogei e 4 epigei) monitorati da marzo ad agosto 2013 con la stessa metodologia. Ogni pozza è stata misurata tramite rotella metrica ad ogni campionamento per rilevarne la superficie totale. Al fine di stimare la densità delle larve presenti in ogni sito è stato effettuato un campionamento tramite *removal sampling*. Il lavoro è stato autorizzato in deroga alla legge regionale 10 del 2008, n. p.: F1.2013.0002091. Gli esemplari in questo modo catturati sono stati pesati tramite bilancia digitale PESOLA precisione 0,01 g e per ognuno di essi è stata misurata la lunghezza totale scattando una foto dorsale su carta millimetrata e misurando successivamente la larva con il programma Image J. Infine, per ognuno di essi, è stato registrato lo stadio di sviluppo secondo il metodo mostrato da Jusczyk & Zakrzewski (1981) per verificare di volta in volta il numero di larve prossime alla metamorfosi. Abbiamo assunto che le larve prossime alla metamorfosi (stadio 3a e stadio 3b) non rinvenute al passaggio successivo corrispondano a individui che hanno metamorfosato con successo. Data la frequenza dei passaggi la taglia raggiunta e il fatto che negli stadi più avanzati la mortalità si riduce notevolmente e l'impossibilità di rintracciare i neometamorfosati appena fuoriusciti dall'acqua, il numero di larve che raggiungono gli stadi appena antecedenti alla metamorfosi può essere considerato una discreta approssimazione delle larve che effettivamente raggiungono la metamorfosi (Reinhardt *et al.*, 2013). I macroinvertebrati sono stati campionati tramite la tecnica del *pipe-sampling* (Skelly *et al.*, 2010). Una volta catturati sono stati sottoposti a conteggio ed è stata effettuata la distinzione tra potenziali prede o predatori dello stadio larvale di salamandra pezzata. Tale distinzione è avvenuta sia su base tassonomica che sulla base delle dimensioni. In particolare sono stati considerati come predatori i gamberi di fiume superiori a

35 mm di lunghezza totale e le larve di odonato superiori ai 20 mm di lunghezza totale. Successivamente ne è stata misurata la biomassa come g/m^2 in funzione dell'area di ciascuna pozza rilevata ad ogni passaggio.

Per ogni sito sono stati inoltre misurati alcuni parametri ambientali abiotici: temperatura dell'aria e dell'acqua, luminosità minima e massima tramite luxmetro PCE-170, range 0,00 – 40000 lux.

Il bilancio di biomassa a livello delle larve, calcolato come g/m^2 , è stato ricavato per ciascuna pozza sottraendo alla somma del peso delle larve che avevano raggiunto gli stadi pre-metamorfofici la somma del peso delle larve appena deposte rinvenute nei primi monitoraggi.

Per capire quali fattori influenzano il bilancio di biomassa in uscita sono stati utilizzati i modelli lineari misti generalizzati (GLMMs). In particolare sono stati effettuati i modelli derivanti da tutte le possibili combinazioni tra le variabili considerate. Tramite selezione dell'Akaike Information Criterion (AICc) è stato selezionato il modello più probabile e di esso è stata valutata la significatività delle variabili che lo componevano tramite un likelihood ratio test. Tutte le analisi sono state effettuate in ambiente R utilizzando i pacchetti nlme MuMin e car.

La biomassa in uscita è stata utilizzata come variabile dipendente, mentre come variabili indipendenti sono state utilizzate la temperatura media, luminosità massima del sito, la biomassa di predatori media, la biomassa di prede media e la densità media di larve di salamandra che è risultata presente nei siti nell'arco del periodo di campionamento considerando il totale dei siti ipogei ed epigei rilevati. Le variabili sono state trasformate tramite logaritmo per andare incontro ai criteri di normalità. Una seconda analisi è stata effettuata aggiungendo a quelle già elencate la distinzione tra siti epigei ed ipogei come variabile indipendente.

Risultati

In media nelle pozze monitorate nel corso del 2014, è stata riscontrata un'elevata densità di larve iniziale (media \pm deviazione standard: $10,3 \pm 8,8$ individui/ m^2) e anche il numero di larve che hanno raggiunto la metamorfosi è stato relativamente elevato ($13,0 \pm 8,3$ individui per sito). In media la biomassa di prede è stata $0,802 \pm 1,3$ g/m^2 ; i predatori rinvenuti sono stati, essenzialmente, larve di odonati appartenenti ai generi *Cordulegaster* e *Aeschna*. Nei siti ipogei non sono stati riscontrati predatori.

Il bilancio di biomassa in uscita è risultato significativamente influenzato dalla luminosità dei siti ($\chi^2 = 70,55$; $P < 0,001$). Siti più luminosi hanno mostrato un bilancio di biomassa in uscita a livello delle larve di salamandra più elevato. La biomassa media di prede e predatori non è risultata significativa.

Considerando la distinzione tra siti epigei e siti ipogei, il bilancio di biomassa in uscita è risultato significativamente maggiore nei siti epigei ($\chi^2 = 17,16$; $P < 0,001$). Inoltre, il bilancio di biomassa è risultato significativamente inferiore nei siti con elevata densità media di larve di salamandra ($\chi^2 = 5,13$; $P = 0,02$).

Discussione

Questa analisi mostra come il bilancio di biomassa a livello delle larve di salamandra pezzata sia significativamente influenzato dalle caratteristiche dell'ambiente. In generale i siti più luminosi, dove si suppone che la produzione primaria sia più elevata, si sono dimostrati più produttivi. Questo sicuramente per la possibilità sia di rinvenire maggiore periphyton e risorse trofiche per la catena alimentare, sia verosimilmente per una maggiore possibilità di utilizzo per la deposizione da parte di insetti semi-acquatici dei siti epigei (più luminosi) rispetto ai siti ipogei. L'analisi che prende in considerazione la distinzione tra siti epigei e siti ipogei indica che sia l'ambiente di grotta che la densità di larve influenzano negativamente il bilancio di biomassa in uscita.

Gli ambienti acquatici di grotta, anche se piuttosto superficiali come quelli colonizzati dalle salamandre, si dimostrano quindi, a livello delle larve che raggiungono gli stadi pre-metamorfoosi, meno produttivi di quelli epigei. Infatti negli ambienti epigei la biomassa in uscita, sotto forma di individui che, accresciutisi grazie alla disponibilità di risorse trofiche, raggiungono gli stadi immediatamente precedenti la metamorfosi è maggiore della biomassa in ingresso con l'antecedente deposizione delle larve. Per quanto riguarda i siti ipogei, invece, questa relazione si inverte. La relazione negativa tra bilancio di biomassa e densità delle larve potrebbe almeno in parte essere spiegata dal cannibalismo in fase larvale presente in questa specie. La densità delle larve dipende sia da quante ne vengono deposte e sopravvivono nei diversi periodi di accrescimento sia dalle variazioni di dimensione della pozza. Nel corso del periodo di studio è stata valutata la dimensione delle pozze nel corso di ciascun campionamento. Mentre per le pozze ipogee si è osservata una notevole stabilità dei siti, negli ambienti epigei la variazione è stata in alcuni casi notevole con una riduzione massima addirittura del 95 % della superficie della pozza tra un rilievo e l'altro, mentre è stata praticamente assente in altri siti alimentati da sorgenti che sono rimaste piuttosto costanti (variazione media della superficie sul totale siti epigei $6,14 \pm 2$ %). I nostri risultati potrebbero essere pertanto legati al fatto che in pozze di ridotta dimensione con forte densità di conspecifici e poche possibilità di fuggire il tasso di cannibalismo diventa molto forte. Tale aspetto sarà indagato in studi futuri. Anche le modalità di utilizzo dell'area delle pozze costituiscono un elemento di interesse. Recenti studi (Manenti *et al.*, 2016), hanno mostrato come vi siano notevoli variazioni dell'utilizzo dello spazio delle pozze sia in funzione dei predatori presenti che delle condizioni di luminosità che delle tipologie di habitat. Inoltre le larve di salamandra pezzata in grotta sono state osservate essere molto attive, anche grazie alla mancanza di predatori naturali (Manenti *et al.*, 2015). Dato che in *S. salamandra* condizioni di elevata densità larvale favoriscono l'aumento di interazioni aggressive intraspecifiche e l'insorgenza del cannibalismo (Reques & Tejedo, 1996), la predazione intraspecifica potrebbe risultare maggiore in ambiente ipogeo, dove per altro le risorse trofiche sono più scarse. I nostri risultati forniscono quindi una base interessante per futuri studi sui fattori e le pressioni selettive che possono influenzare la colonizzazione degli ambienti ipogei.

Bibliografia

- Caldonazzi, M., Nistri, A., Tripepi, S. (2007): *Salamandra salamandra*. In: Lanza, B., Andreone, F., Bologna, M.A., Corti, C., Razzetti, E. (eds), Fauna d'Italia vol. XLII. Amphibia. Edizioni Calderini, Bologna: 221-227.
- Juszczak, W., Zakrzewski, M. (1981): External morphology of larval stages of the spotted salamander *Salamandra salamandra* (L.), Acta Biologica Cracoviensa **23**: 127-135.
- Manenti, R., Melotto, A., Barzaghi, B., Ballabio, F., Pennati, R., Ficetola, G.F. (2015): Is activity and space use of salamanders affected by predators occurrence? A first survey. In: Doria, G., Poggi, R., Salvidio, S., Tavano, M. (eds), Atti X Congresso Nazionale della *Societas Herpetologica Italica* (Genova, 15-18 ottobre 2014). Ianieri Edizioni, Pescara: 99-104.
- Manenti, R., Ficetola, G.F., Marieni, A., De Bernardi, F. (2011): Caves as breeding sites for *Salamandra salamandra*: habitat selection, larval development and conservation issues. North-Western Journal of Zoology **7**: 304-309.
- Manenti, R., Melotto, A., Denoël, M., Ficetola, G.F. (2016): Amphibians breeding in refuge habitats have larvae with stronger antipredator responses. Animal Behaviour **118**: 115-121.
- Reinhardt, T., Steinfartz, S., Paetzold, A., Weitere, M. (2013): Linking the evolution of habitat choice to ecosystem functioning: direct and indirect effects of pond-reproducing fire salamanders on aquatic-terrestrial subsidies, Oecologia.
- Reques, R., Tejedo, M. (1996): Intraspecific aggressive behaviour in fire salamander larvae (*Salamandra salamandra*): the effects of density and body size. Herpetological Journal **6**: 15-19.
- Skelly, D.K., Richardson, J.L. (2010): Larval sampling, In: Dodd, C.K.J. (ed), Amphibian ecology and conservation. A handbook of techniques. Oxford University Press, Oxford: 55-70.