



**Universitat de les
Illes Balears**

**TESIS DOCTORAL
2014**

**BIOLOGÍA Y CONSERVACIÓN
DEL FERRERET
*ALYTES MULETENSIS***

Samuel Piña Fernández

Citaci3n sugerida:

Piña, S. (2014). Biologia y Conservaci3n del Ferreret (*Alytes muletensis*). Tesis Doctoral. Universitat de les Illes Balears.

Direcci3n actual:

Universitat de les Illes Balears
Departament de Biologia.  rea d'Ecologia
Carretera de Valldemossa km. 7.5
07122 Palma
E-mail: s.pinya@uib.es



**Universitat de les
Illes Balears**

**TESI DOCTORAL
2014**

**Programa de Doctorat d'Ecologia
Marina**

**BIOLOGÍA Y CONSERVACIÓN DEL
FERRERET, ALYTES MULETENSIS**

Samuel Piña Fernández

**Director: Valentín Pérez Mellado
Ponent: Misericòrida Ramón Sampere**

Doctor por la Universitat de les Illes Balears

INDICE DE LOS CONTENIDOS

| | |
|---|-------------|
| AGRADECIMIENTOS | xi |
| OBJETIVO DE LA TESIS | xiii |
| ESTRUCTURA DE LA TESIS | xv |
| RESUMEN | xvii |
| SUMMARY | xix |
| CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1. CUANDO LA CIENCIA DESCUBRE AL FERRERET | 3 |
| 1.1.1. El descubrimiento de los payeses | 3 |
| 1.1.2. El redescubrimiento por la ciencia | 4 |
| 1.2. DESCRIPCIÓN DEL FERRERET | 5 |
| 1.3. DISTRIBUCIÓN | 8 |
| 1.3.1. Distribución histórica..... | 8 |
| 1.3.2. Distribución actual..... | 8 |
| 1.4. RELACIONES FILOGENÉTICAS, BIOGEOGRAFIA Y VARIABILIDAD GENÉTICA..... | 11 |
| 1.4.1. Relaciones filogenéticas y biogeografía | 11 |
| 1.4.2. Variabilidad y flujo genético | 12 |
| 1.5. BIOLOGÍA TRÓFICA Y REPRODUCTIVA..... | 13 |
| 1.5.1. Biología trófica | 13 |
| 1.5.2. Biología de la reproducción | 14 |
| 1.6. DEPREDACIÓN, PARASITISMO Y ENFERMEDADES EMERGENTES | 16 |
| 1.6.1. Depredación | 16 |
| 1.6.2. Parasitismo | 17 |
| 1.6.3. Enfermedades emergentes | 18 |
| 1.7. EVOLUCIÓN DEL CONOCIMIENTO | 19 |
| 1.7.1. El ferreret, una especie diana para la ciencia | 19 |
| 1.7.2. La internacinalización del conocimiento | 21 |
| 1.7.3. El Grupo Internacional de Trabajo..... | 22 |

| | | |
|---------|--|-----------|
| 1.8. | GESTIÓN Y CONSERVACIÓN..... | 23 |
| 1.8.1. | Instrumentos de gestión..... | 23 |
| 1.8.2. | La conservación ex-situ..... | 26 |
| 1.8.3. | La conservación <i>in-situ</i> | 28 |
| 1.8.4. | Estado de las poblaciones actuales | 32 |
| | CAPÍTULO II. MATERIAL Y MÉTODOS GENERALES | 35 |
| 2.1. | LOCALIDADES DE ESTUDIO | 37 |
| 2.1.1. | Localidad 1.A | 38 |
| 2.1.2. | Localidad I.A. | 38 |
| 2.1.3. | Localidad 1.B | 38 |
| 2.1.4. | Localidad I.B | 39 |
| 2.1.5. | Localidad I.D | 40 |
| 2.1.6. | Localidad 2.B | 41 |
| 2.1.7. | Localidad 4.A | 42 |
| 2.1.8. | Localidad 4.B | 42 |
| 2.1.9. | Localidad 4.C | 43 |
| 2.1.10. | Localidad 5 | 43 |
| 2.1.11. | Localidad 7.A | 44 |
| 2.1.12. | Localidad VII.B | 45 |
| 2.1.13. | Localidad VII.C | 46 |
| 2.1.14. | Localidad 8.B | 47 |
| 2.1.15. | Localidad VIII.B | 48 |
| 2.1.16. | Localidad 11.A | 48 |
| 2.1.17. | Localidad XI.A | 49 |
| 2.1.18. | Localidad 15.A | 50 |
| 2.1.19. | Localidad 15.B | 50 |
| 2.1.20. | Localidad XVI | 51 |
| 2.1.21. | Localidad XIX.B | 52 |

RESULTADOS

| | |
|---|-----------|
| CAPÍTULO III. IDENTIFICACIÓN INDIVIDUAL Y SEXUAL..... | 55 |
| 3.1. INDIVIDUAL IDENTIFICATION AND SEXUAL DIMORPHISM IN THE ENDANGERED BALEARIC MIDWIFE TOAD | 67 |
| Introduction | 57 |
| Material and methods | 58 |
| Results and discussion | 59 |
| References | 63 |
| CAPÍTULO IV. MORFOLOGÍA DE LOS ADULTOS: | 65 |
| 4.1. OPTIMAL HÁBITAT OF THE MAJORCAN MIDWIFE TOAD | 67 |
| Introduction | 67 |
| Material and methods | 69 |
| Results | 70 |
| Discussion..... | 72 |
| References | 75 |
| 4.2. FIRST RECORDS OF LIMB MALFORMATIONS IN WILD POPULATIONS OF THE ENDAGERED BALEARIC MIDWIFE TOAD | 79 |
| Introduction | 79 |
| Material and methods | 80 |
| Results and discussion | 80 |
| References | 83 |
| CAPÍTULO V. PARÁMETROS DEMOGRÁFICOS DE LAS POBLACIONES DE FERRERET..... | 87 |
| 5.1. AGEING AND GROWTH OF THE ENDANGERD MIDWIFE TOAD ALYTES MULETENSIS..... | 89 |
| Introduction | 90 |
| Material and methods | 91 |
| Results | 92 |
| Discussion..... | 93 |
| References | 96 |
| 5.2. CLUTCH SIZE IN WILD POPULATIONS OF ALYTES MULETENSIS..... | 101 |
| Introduction | 101 |

| | |
|--|------------|
| Material and methods | 103 |
| Results and discussion | 104 |
| References | 105 |
| CAPÍTULO VI. CICLO VITAL | 107 |
| 6. ADULT SURVIVAL AND MALE FITNESS OF AN INSULAR AMPHIBIAN WITH MALE PARENTAL CARE | 109 |
| Introduction | 109 |
| Methods | 110 |
| Results | 116 |
| Discussion..... | 118 |
| Referenes | 120 |
| CAPÍTULO VII. RELACIÓN CON OTRAS ESPECIES | 125 |
| 7. BREEDING DISTURBANCE OF AN ENDEMIC AMPHIBIAN BY AN INTRODUCED SNAKE | 127 |
| CAPÍTULO VIII. DISCUSIÓN GENERAL..... | 135 |
| 8.1. Identificación individual | 137 |
| 8.2. Morfología | 137 |
| 8.3. El hábitat óptimo | 139 |
| 8.4. Malformaciones | 141 |
| 8.5. Edad y crecimiento | 142 |
| 8.6. Tamaño de puesta | 143 |
| 8.7. Supervivencia adulta | 145 |
| 8.8. Molestias durante la reproducción | 147 |
| CAPÍTULO IX. CONCLUSIONES..... | 149 |
| CAPÍTULO X. REFERENCIAS | 155 |
| 8.1. Referencias bibliográficas..... | 159 |
| 8.2. Referencias normativas..... | 170 |
| <u>ANEXO I. COPIA SIMPLE DE LOS TRABAJOS PUBLICADOS</u> | 173 |

AGRADECIMIENTOS

A mis padres Antonio y Begoña, y hermanos Jorge y Salva, que me han animado en todo momento en el arduo camino de finalizar este trabajo y han confiado en mis posibilidades.

A Almudena, que nos casamos durante realización de la tesis, y a mis hijos que nacieron también durante la misma. Han sido muchísimas las noches que me habéis animado a continuar, sobretodo tu Almudena. Habéis estado a mi lado cuando las circunstancias y mi situación profesional y personal no ha sido la mejor y he caído en el desánimo. Es por ello que os agradeceré eternamente toda vuestra ayuda y comprensión. Marina y Victor os prometo que os llevaré a ver el ferreret cuando seais un poco más grandes. Así podréis ver *in situ* todo aquello que desde que apenas caminabais habéis visto en la pantalla del ordenador.

A Valentín Pérez-Mellado por su confianza, apoyo continuo y sobretodo paciencia. Sin ti esta tesis no podría haber tenido lugar. Tu orientación, consejos, perspectiva y la toma de riendas, cuando era necesario, me han permitido conseguir una meta que veía muy lejana. A lo largo de esta década de trabajo no sólo me has enseñado a pensar y actuar como un futuro científico sino que he conseguido algo más valioso, una muy buena amistad.

A todo el equipo de l'Associació per a l'Estudi de la Natura: Rosa Albertí, Lluís Amorós, Sebastián Trenado, Eduard Cuadrado y Juan José Suárez por la ayuda en las largas jornadas de trabajo de campo estival dónde habéis sufrido el calor y los largos períodos de toma de datos.

A todo el equipo del Servicio de Protección de Especies, Joan Mayol, Joan Oliver, Xavier Manzano, Iván Ramos, Vicenç Fortesa, Eva Moragues y Jordi Muntaner, por facilitar el trabajo, las autorizaciones y la ayuda en el trabajo de campo. Muy especialmente agradezco a Xavier Manzano y Joan Oliver por todo lo que me han enseñado del ferreret. También de manera muy especial a Jaume Bonnin que durante los censos anuales me ha ayudado en la toma de datos de adultos.

A todo el equipo de la extinta Espais de Natura Balear por todo el apoyo y confianza cuando estaba trabajando en el Paraje Natural de la Serra de Tramuntana. Muy especialmente a Catalina Massutí, M^a Antònia Vanrell, Joan Carles Salom, Esperança Perelló, Luís Rubén Martínez, Natalia Martí por apoyarme y entender la importancia del estudio del ferreret como parte activa de la gestión del espacio natural, así como por ayudarme en el trabajo de campo cuando lo necesitaba.

A Giacomo Tavecchia del Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados por tu ayuda a la hora de estimar las supervivencias y modelizar un primer ciclo de vida de la especie. A Beatriz Guijarro del Instituto Español de Oceanografía, compañera de carrera, por estar siempre cercana frente a cualquier consulta sobre estadística y matemática en general. A Damon McShane y todos los miembros de la Asociación Balearik, por todo vuestro apoyo y ayuda incondicional. A Ferrán Lluc del Servicio de Cartografía de la Conselleria de Agricultura, Medio Ambiente y Territorio por toda la ayuda prestada en temas cartográficos, tanto para esta tesis doctoral como para otros trabajos. A todos los payeses y propietarios de las fincas dónde vive

el ferreret por haberme permitido acceder a vuestras propiedades para realizar el trabajo de campo.

A todos vosotros, y muy especialmente a mi mujer Almudena, os agradezco infinitamente todo el esfuerzo y apoyo realizado y os dedico este conjunto de trabajos, así como todos los que vengan en un futuro. Sin todo vuestro apoyo todo habría quedado en una ilusión y por el contrario se ha convertido en una realidad.

OBJETIVO DE LA TESIS

El ferreret es una especie a la que se le ha dedicado una gran cantidad de recursos humanos y económicos desde que fuera descubierta, con la finalidad de garantizar un estado de conservación favorable. En el mismo sentido diferentes equipos de científicos han estudiado aspectos de la biología y la ecología de la especie que han permitido tener un amplio conocimiento de ésta, y en muchas ocasiones este conocimiento se ha aplicado a su conservación. Pero hasta la fecha no se había trabajado en el conocimiento de la fracción adulta de las poblaciones silvestres, es por ello que el objetivo principal de la tesis es contribuir al conocimiento de la fracción adulta aplicada a la conservación de la especie.

Para poder lograr el objetivo principal es necesario en primer lugar asentar las bases para el conocimiento de los adultos, como es la identificación de cada uno de los individuos que integran una población y poder establecer una metodología que permita discriminar entre machos y hembras con la suficiente garantía.

Así mismo, también consituye un objetivo de la tesis, conocer si existen diferencias morfológicas entre las diferentes poblaciones, así como establecer los parámetros demográficos básicos como es el tamaño de puesta en poblaciones silvestres, determinar la edad media de machos y hembras, así como su esperanza de vida y las tasas de crecimiento. También conocer en base a los datos existentes si existe algún tipo de interacción entre la fracción adulta y la introducción de ejemplares de *N. maura* en poblaciones silvestres.

Con toda la información obtenida se pretende obtener un ciclo vital básico que permita calcular tasas de supervivencia anual para ambos sexos y constituir así el primer modelo demográfico de la especie que debe ser perfeccionado en un futuro en función de diferentes variables e hipótesis.

ESTRUCTURA DE LA TESIS

Esta tesis es una colección de publicaciones científicas que van precedidas de una introducción (**Capítulo 1**) donde es presentado un resumen de todo el conocimiento previo sobre la especie, y del material y métodos comunes (**Capítulo 2**) donde se describen las localidades estudiadas.

En el **Capítulo 3** se sientan las bases para el estudio de adultos de la especie a través de la identificación individual y sexual. Y a éste le sigue el **Capítulo 4** que realiza una comparación de longitud y condición corporal entre diferentes tipos de localidades, cuestionando cual es el habitat óptimo de la especie, así como también se documentan los primeros casos de malformaciones encontrados en adultos.

Desde un punto de vista de la población en el **Capítulo 5** se analizan los tamaños de puesta procedentes de localidades naturales y se profundiza en el conocimiento de parámetros como la edad media, la esperanza de vida o las tasas de crecimiento tanto para machos como para hembras.

La supervivencia anual de machos y hembras, a partir de la construcción de un modelo sencillo de ciclo vital se desarrolla en el **Capítulo 6**. Y las molestias durante la reproducción causadas por el depredador introducido *Natrix maura* se detallan en el **Capítulo 7**.

A continuación, en el **Capítulo 8** se realiza una discusión general por apartados que trata de discutir y resaltar los resultados obtenidos en cada uno de los temas tratados.

Finalmente en el **Capítulo 9** se resumen las principales conclusiones y en el **Capítulo 10** aparece la bibliografía específica de los **Capítulos 1, 2 y 8**

RESUMEN

El ferreret (*Alytes muletensis*) es una especie amenazada principalmente por la introducción de especies alóctonas como *Natrix maura* y *Batrachochytrium dendrobatidis*. Dada su condición de especie amenazada, durante décadas ha sido objeto de un gran número de estudios, la gran mayoría centrados en el conocimiento de la fracción larvaria de la población.

El conocimiento de la estructura y dinámica de la población de una especie dada se fundamenta principalmente en el conocimiento de la fracción adulta de la misma. Y hasta la fecha dicho conocimiento era mínimo para *A. muletensis*, reduciéndose a aspectos etológicos como la reproducción, y en muchos casos la información obtenida provenía de poblaciones cautivas.

El presente conjunto de trabajos asienta las bases para el conocimiento de la fracción adulta, como es la identificación de los miembros de la población a partir de técnicas de fotoidentificación, así como la determinación del sexo a partir de la construcción de funciones discriminantes de clasificación sexual a partir de un estudio morfológico. Gracias a la obtención de esta metodología se ha podido continuar en el estudio de la estructura y dinámica poblacional.

Así, se han comparado las longitudes y condiciones corporales procedentes de individuos de poblaciones naturales y artificiales, hecho que ha permitido conocer mejor la idoneidad del hábitat. Los individuos procedentes de poblaciones artificiales presentan una longitud y condición corporal mayor que los de poblaciones naturales, dando lugar a pensar que, desde el punto de vista del individuo, los hábitats óptimos para la especie son aquellos más similares a los artificiales. No obstante, desde el punto de vista de la conservación, los hábitats de las poblaciones naturales presentan un tamaño poblacional mayor y un elevado número de puntos de reproducción que permitiría hacer frente mejor al impacto de la llegada de depredadores introducidos. Mientras que en una población artificial apenas se podría hacer frente a tal impacto, dado su pequeño tamaño poblacional y bajo número de puntos de reproducción.

Además, se han podido establecer parámetros propios de poblaciones silvestres como es el caso del tamaño de puesta, la edad media, la esperanza de vida o la tasa de crecimiento,

tanto para machos como para hembras. Estos datos sin duda han sido de vital transcendencia ya que han permitido elaborar el primer ciclo de vida sencillo con el que se han podido calcular las primeras tasas de supervivencia de cada sexo para una población silvestre. Sin lugar a dudas, este hecho supone un antes y un después en el conocimiento de la dinámica de la población que permitirá en un futuro mejorar este ciclo de vida en función de diferentes situaciones y tipos de poblaciones.

El conjunto de trabajos realizados se complementa con la detección de los primeros casos de malformaciones en individuos adultos, que pese a desconocer con exactitud la causa más probable establece una alerta ante futuros casos y provoca una atención especial en este tipo de anomalías morfológicas. También se presta especial atención a la interacción entre *Natrix maura* y la fracción adulta de la población, hecho que ha permitido conocer el impacto de la llegada de ejemplares de culebra viperina sobre la actividad reproductora, paralizándola hasta el punto de provocar la casi extinción de una población.

De manera concluyente y con una perspectiva global la presente tesis aporta una información única, en el sentido que facilita el conocimiento necesario para comprender aspectos como la biología y ecología de una especie amenazada aplicada a su conservación, y establece las bases para la continuación del estudio de la fracción adulta.

SUMMARY

The Mallorcan midwife toad (*Alytes muletensis*) is a threatened species due to the introduction of alien species as *Natrix maura* and *Batrachochytrium dendrobatidis*. Given their status as endangered species it has been subject of many studies for decades, most of them focused on the knowledge of the larval fraction of the population.

The knowledge of the structure and dynamics of the population of a given species is mainly based on the knowledge of the adult fraction of it. And to date this knowledge was minimal for *A. muletensis*, reducing to behavioral aspects such as reproduction and, in many cases, the information obtained came from captive populations.

This series of works lays the basis for a better understanding of the adult fraction, as is the identification of members of the population from photo-identification techniques, as well as the sex determination from building functions for sexual discrimination from a morphological study. Thanks to obtaining this methodology it has been able to continue in the study of the structure and population dynamics.

Thus, the lengths and body condition of individuals from natural and artificial populations have been compared, which has led to a better understanding of habitat suitability. Individuals from artificial populations have greater length and coporal condition than the ones from the natural populations, leading to think that, from the point of view of the individual, the optimal habitats for the species are more similar to those as the artificial. However, from the point of view of conservation, habitats of natural populations have a higher population size and a large number of breeding sites that would face better the impact of the arrival of introduced predators. While in an artificial population it could hardly cope with such an impact, given its small population size and low number of breeding sites.

Furthermore, it has been possible to establish proper parameters of wild populations such as clutch size, average age, lifespan or the growth rate for both males and females. These data have certainly been of vital significance as they have enabled the development of the first simple life cycle with which it has been possible to calculate the first survival rates of each sex for a wild population. Undoubtedly, this fact is a before and after in the knowledge of the population dynamics that allow the future to improve the life cycle depending on different situations and types of populations.

The work is complemented with the detection of the first cases of malformations in adult individuals, although we are not not aware exactly of the most likely cause it establishes an alert to future cases and causes special attention to this type of morphological abnormalities. Special attention to the interaction between *Natrix maura* and adult fraction of the population is also given, a fact that has revealed the impact of the arrival of specimens of viper snake on reproductive activity, paralyzing it to the point of causing the near extinction of a population.

Conclusively and with a global perspective this thesis provides unique information, in the sense that facilitates the necessary knowledge to understand aspects as the biology and ecology of an endangered species applied to its conservation, and lays the basis for further adult fraction studies.

CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN



1.1. CUANDO LA CIENCIA DESCUBRE AL FERRERET

1.1.1. El descubrimiento de los payeses

Hasta que Carl von Linné creó el sistema actual de nomenclatura para las especies en el siglo XVIII (LINNÉ, 1758) la cultura popular ya asignaba un nombre a aquellas especies con las que se relacionaba, bien sea por su utilidad como (especies para consumo alimentario o medicinal), su peligrosidad (especies tóxicas o venenosas) o simple curiosidad y estima, así como por otros motivos. Es destacable el hecho que dentro de la pequeña parte de las especies silvestres que encontramos en las Islas Baleares con un nombre popular, se encuentre a nuestro protagonista, que tenía un nombre que ya conocía la población rural, dónde esta especie habitaba: el ferreret. Curiosamente, bastante tiempo antes de que fuera descubierto por la ciencia. No hemos encontrado referencias escritas de cuando la palabra *ferreret* empieza a utilizarse, si bien, probablemente ésta sea posterior al siglo XIII, a partir de la conquista de Mallorca por la Corona de Aragón, por el idioma que es empleado. En cualquier caso, el nombre de ferreret hace referencia a un pequeño herrero (*ferrer* en catalán), ya que el sonido que emite durante el canto reproductor tanto del macho como de la hembra recuerda a un herrero forjando el hierro caliente contra un yunque.

Ahora bien, el nombre de *ferreret* no solo era empleado para designar a la especie de sapo partero, sino también para designar localizaciones y accidentes geográficos de Mallorca con presencia de la especie. Así, aún hoy en día se conservan topónimos como el *torrent dels Ferrerets* (Escorca, FIGURA 1.1), lugar dónde actualmente encontramos una pequeña población de *ferrerets* afectada por la quitridiomycosis (ver página 43), la *coma des Ferrerics* (Fornalutx), lugar dónde existen pequeñas poblaciones de *ferreret* fruto de los planes de recuperación de la especie (ver página 25). Incluso existen casos de pozas denominadas *gorg dels ferrerets*, que actualmente no albergan ni un



FIGURA 1.1. Torrent dels Ferrerets

individuo de la especie. Es el caso del torrent d'Almadrà donde, debido a la construcción de la presa para crear el embalse de Cúber, se extinguió la población presente en el citado torrente. También existen topónimos actuales con referencias al *ferreret* en lugares bien alejados de la distribución actual de la especie como *Son Ferreret* (Palma) o *Son Ferreret Vell* (Marratxí), aunque estos últimos podrían hacer referencia a la profesión de herrero más que al *ferreret*.

Es de justicia reconocer que el verdadero descubridor del *ferreret* no fue la comunidad científica sino la población rural que ya lo había bautizado con el nombre de *ferreret*, e incluso había designado determinados topónimos para reconocer dónde habitaban estos pequeños anfibios.

1.1.2. El redescubrimiento por la ciencia

La primera cita de un sapo partero en las Islas Baleares data del siglo XIX, cuando el herpetólogo Eduardo Boscà (FIGURA 1.2) afirma haber encontrado el sapo partero común, *Alytes obstetricans boscai* (Lataste) en estado larvario que fue determinado y confirmado posteriormente por M. Heron-Royer, naturalista francés (BOSCÀ, 1881; MAYOL, 2003). Parece claro que Boscà determinó correctamente a la larva de *Alytes*, morfológicamente muy similar entre *A. osbtetricans* y *A. muletensis*. Es obvio que el naturalista valenciano no podía determinar entonces, a partir únicamente de la larva, que se trataba de una especie diferente al sapo partero común. Pese a ello su hallazgo sufrió varias críticas de la comunidad científica que se cuestionó el hallazgo y se le atribuyó a la entonces *Rana perezii* (syn. *Pelophylax perezii*).

En la segunda mitad del siglo XX, concretamente en el año 1977, el Dr. Borja Sanchíz, paleontólogo especializado en anfibios y Rafael Adrover, naturalista mallorquín, publican un detallado estudio sobre los restos fósiles de anfibios del cuaternario de las Islas Baleares (SANCHÍZ & ADROVER, 1977). En el trabajo se describe un nuevo género y especie para la ciencia denominada *Baleaphryne muletensis*, que se asemeja estructuralmente a *Alytes obstetricans*, pero presenta algunas diferencias morfológicas significativas. El nombre genérico proviene de *balea-*, raíz del nombre de las Islas Baleares, *-phryne* del griego *Prynos*, que significa sapo, y el nombre científico *muletensis* proviene de Muleta, nombre de la zona dónde se encuentra la cueva de Sóller dónde fueron encontrados buena parte de los restos paleontológicos (MAYOL, 2003).

En 1978 los naturalistas isleños Joan Mayol y Gabriel Pomar localizaron en un torrente de montaña el primer ejemplar adulto y se apresuraron a compararlo con ejemplares de *Alytes* de colecciones científicas peninsulares y se pudo comprobar que se trataba de una especie diferente. Posteriormente se continuó estudiando en el medio natural con la ayuda de otros naturalistas como Damià Jaume, Guillem Alomar y Jesús Jurado, pero temerosos del coleccionismo de animales de aquel entonces, el GOB a través de la CODA (Coordinadora para la Defensa de las Aves y sus Hábitats) consiguió que *Baleaphryne muletensis* se incluyera en un Real Decreto que protegía determinadas especies de fauna silvestre (Real Decreto 3181/1980) antes de que se publicase su hallazgo en revistas científicas (MAYOL, 2003).



FIGURA 1.2. Retrato de Eduard Boscà, que citó por primera vez la presencia de un sapo partero en las Islas Baleares.

Posteriormente, entre los años 1980 y 1981, se citó por primera vez para la ciencia, aunque en tres revistas diferentes, el hallazgo del descubrimiento de un fósil viviente del género *Baleaphryne* en la isla de Mallorca (ALCOVER & MAYOL, 1980; MAYOL & ALCOVER, 1981; MAYOL ET AL., 1980), hecho que revolucionó a la comunidad herpetológica en toda Europa, e incluso molestó a parte de esta comunidad científica debido al elevado secretismo que se produjo entonces.

1.2. DESCRIPCIÓN DEL FERRERET

El adulto es grácil y alargado, con una longitud corporal que oscila entre los 28.5 y los 38.0 mm., el más pequeño de los que conforman el género *Alytes* (TABLA 1.1, FIGURA 1.3). Sus ojos son muy prominentes y de situación lateral, con presencia de un iris dorado vermiculado de negro y pupila vertical. Las extremidades son alargadas y poco corpulentas, siendo las

posteriores más largas que los anteriores, como el resto de anuros, y presenta una membrana digital rudimentaria que alcanza la segunda o tercera falange (MAYOL ET AL., 1984)

| Especie | Longitud corporal (mm) | Referencias |
|----------------------------|------------------------|--|
| <i>Alytes muletensis</i> | ♂♂ 28.5-37.5 | ALCOVER ET AL., 1984; BUSH, 1993 |
| | ♀♀ 30.5-38.0 | |
| | ♂♂ 31.06-36.44 | PINYA & PÉREZ-MELLADO, 2009 |
| | ♀♀ 31.27-41.20 | |
| <i>Alytes obstetricans</i> | ♂♂ XXX-52.00 | BOSCH & MÁRQUEZ, 1996 |
| | ♀♀ XXX-50.0 | |
| <i>Alytes cisternasii</i> | ♂♂ 21.5-42.5 | BOSCH & MÁRQUEZ, 1996 |
| | ♀♀ 27.5-45.0 | |
| <i>Alytes dickhilleni</i> | ♂♂ 37.5-46.0 | GONZÁLEZ-MIRAS ET AL., 2012 |
| | ♀♀ 41.0-56.5 | |
| <i>Alytes maurus</i> | 33.0-47.0 | DONAIRE-BARROSO & BOGAERTS, 2003; MÁRQUEZ ET AL., 2011 |
| | ♂♂ 38.0-43.0 | |

TABLA 1.1. Comparativa de los tamaños corporales de las cinco especies del género *Alytes* (ALCOVER ET AL., 1984; BOSCH & MÁRQUEZ, 1996; BUSH, 1993; DONAIRE-BARROSO & BOGAERTS, 2003; PINYA & PÉREZ-MELLADO, 2009; MÁRQUEZ ET AL., 2011; GONZÁLEZ-MIRAS ET AL., 2012)

La piel es lisa o muy poco granulosa, con glándulas parótidas no aparentes. La coloración de fondo del dorso es amarillo-dorada, con todos oliváceos cálidos. Presenta manchas dispersas oscuras de color negro oliváceas interconectadas o no, de número y tamaño variable hasta llegar a coloraciones casi uniformes con punteado disperso. La cara ventral está ligeramente pigmentada de blanco, percibiéndose el tono rosado de la musculatura e incluso, en el caso de las hembras, es visible la masa de huevos cuando está grávida (MAYOL ET AL., 1984; GARCÍA-PARÍS ET AL., 2004)



FIGURA 1.3. Diferentes adultos de *A. muletensis* en poblaciones silvestres.

La larva presenta un tamaño grande con una longitud máxima, variable en función de la localidad, que oscila entre los 65 y los 88 mm. Presenta una cola relativamente larga, hasta 1.9 veces la longitud del cuerpo (FIGURA 1.4). Esta proporción es variable en función de la presencia o no de *Natrix maura* (MOORE ET AL., 2004A). La aleta dorsal comienza al final del cuerpo y la ventral al nivel del ano. Presenta un disco oral hipognato que está bordeado por una fila de papilas. El labio anterior presenta dos hileras dobles de dientes córneos negros, mientras que el posterior presenta tres; de ellas, la superior está interrumpida en el centro (VIERTEL, 1984A). La coloración dorsal del cuerpo varía entre negro pizarroso y pardo verdoso en ejemplares con cierto nivel de estrés, con manchas oscuras en la cola como es el caso en poblaciones con presencia de *Natrix maura* (FIGURA 1.5).



FIGURA 1.4. Larvas de *A. muletensis* en diferentes estados de crecimiento.

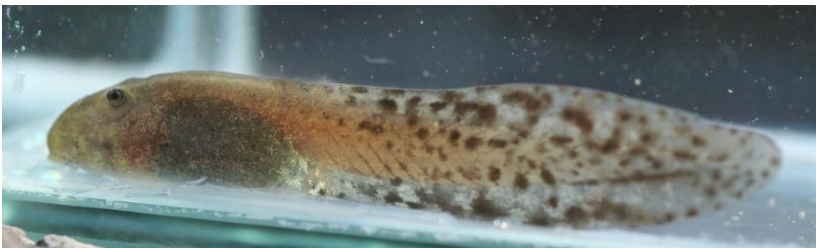


FIGURA 1.5. Larva de *A. muletensis* procedente de una localidad con presencia de *Natrix maura*.

1.3. DISTRIBUCIÓN

1.3.1. Distribución histórica

Alytes multensis ocupaba gran parte de la isla de Mallorca, según puede inferirse de su presencia en yacimientos paleontológicos en diferentes lugares de la isla (ALCOVER & MAYOL, 1981; ALCOVER ET AL., 1981). Con la llegada del hombre a la isla, éste trajo consigo todo un séquito de especies acompañantes entre las que destacamos la culebra viperina (*Natrix maura*), que probablemente causó la extinción de gran parte de las poblaciones existentes, salvo aquéllas en las que tuvo, y tiene aún, dificultades de acceso y que se sitúan en las zonas montañosas de la Sierra de Tramuntana (GUICKIN ET AL., 2006). En la isla de Menorca dónde fue descrito *Alytes talaioticus* (ALCOVER & MAYOL, 1981; ALCOVER ET AL., 1981), pasado posteriormente a la sinonimia de *Alytes muletensis* (SANCHÍZ, 1998), tuvo lugar el mismo proceso de extinción, con la salvedad de que, al no existir barracos cársticos de gran calado que dificultasen el acceso de especies como *Natrix maura*, el sapo partero se extinguió por completo de la isla.

1.3.2. Distribución actual

Especie endémica de la Serra de Tramuntana, en el noroeste de la isla de Mallorca (Islas Baleares), dónde en los últimos años se han generado nuevas localidades que están en proceso de establecimiento, fruto del plan de recuperación. De todas ellas, solo una localidad introducida se encuentra fuera de la Sierra de Tramuntana. *A. muletensis* está presente actualmente en 37 localidades (FIGURA 1.6), con una extensión que roza los 350 km² y una área de ocupación de 13,5 hectáreas (MAYOL, 2005; OLIVER ET AL., 2009; ROMÁN, 2002).

A. muletensis se encuentra en zonas escarpadas, fuerte relieve y, muy difícil acceso, en el interior de cañones cársticos con un gran desnivel, encajados hasta centenares de metros en las montañas calizas del noroeste de la isla de Mallorca (FIGURA 1.7, ver más localidades en el Capítulo 2, página 35). En estas localidades naturales, la presencia del ferreret se correlaciona positivamente con las zonas de mayor pendiente. Incluso la presencia de pendiente es un factor ventajoso ya que el éxito de reproducción de las pozas en las que vive se correlaciona positivamente con la pendiente de las mismas (MOORE ET AL., 2004b).

En estos ambientes los adultos y subadultos pueden escalar paredes verticales y se refugian en las grietas de las rocas. Durante el período de reproducción permanecen muy cercanos a

las pozas de reproducción, ya que el período de lluvias intensas, se produce principalmente en otoño e invierno, cuando los adultos de *A. muletensis* ya han abandonado estos refugios (ALCOVER ET AL., 1984). Las pozas de reproducción se encuentran desde los 10 m sobre el nivel del mar hasta los 850 m (ALOMAR ET AL., 1983; MOORE ET AL., 2004B), en zonas cuya pluviometría oscila entre los 600 y los 1200 mm anuales.



FIGURA. 1.6. Distribución actual de *A. muletensis* en la isla de Mallorca. Se ha omitido cualquier referencia geográfica por motivos de conservación. Fuente: Servicio de Cartografía de la Conselleria d'Agricultura, Medi Ambient i Territori (2014).

La temperatura del agua de gran parte de los torrentes donde vive la especie oscila entre los 9 y los 22°C (ALCOVER ET AL., 1984; ALOMAR ET AL., 1983). Por otra parte, este rango de temperaturas incluye la preferida por las larvas: 21,6°C (MARTENS, 1984) y los óptimos de crecimiento para las larvas de la especie, de 21 a 24°C (KADEL & HEMMER, 1984). *A. muletensis* es el único *Alytes* adaptado a este ciclo vital, en los torrentes cársticos encajonados, con aguas frías y oligotróficas, donde una parte de las larvas invernan y se metamorfosean al siguiente año (LEA ET AL., 2002A), aunque en algunas localidades se pueden encontrar poblaciones de *Pelophylax perezi* que también se reproducen en las pozas.

Si bien los torrentes cársticos son las localidades clásicas donde encontramos a *A. muletensis*, también puede colonizar otra tipología de localidades menos naturales. Localidades artificiales, como aljibes y depósitos total o parcialmente cubiertos (FIGURA 1.8) (ALOMAR & REYNÉS, 1991; ROMÁN & MAYOL, 1995) donde no compite con otras especies, sin avenidas de agua y con un nivel de agua más constante (ver más localidades en el Capítulo 3, páginas 35). Durante las acciones de conservación llevadas a cabo por la administración competente, se ha favorecido la recuperación de localidades artificiales usadas antiguamente como abrevaderos, aljibes o depósitos de agua para consumo humano o de animales como lugares de reproducción de la especie (ROMÁN & MAYOL, 1997). Algunas de estas localidades hoy en día aún están en funcionamiento y albergan algunas poblaciones de gran interés para la conservación de la especie.



FIGURA 1.7. Ejemplo de localidad natural encajada en torrente cárstico con paredes verticales en los laterales del lecho.



FIGURA 1.8. Ejemplo de localidad artificial creada en aljibes construidos por el ser humano.

1.4. RELACIONES FILOGENÉTICAS, BIOGEOGRAFIA Y VARIABILIDAD GENÉTICA

1.4.1. Relaciones filogenéticas y biogeografía

Originalmente el sapo partero fue asignado a un nuevo género, *Baleaphryne*, dado que presentaba diferencias morfológicas, entre las que se destacaba la morfología del húmero, siendo éste más grácil y poco curvado, mientras que el resto de *Alytes* conocidos tenían el húmero más robusto y curvado (ALCOVER ET AL., 1981).

El análisis de datos morfológicos y de ADN mitocondrial sugiere que la radiación en *Alytes* comenzó con la formación de grandes lagos salinos en el interior de Iberia hace 16 Ma (millones de años) y el descenso de temperatura hace 14-13,5 Ma, con la diferenciación de *Alytes cisternasii*. La formación de los Neo-Pirineos y la reapertura del Estrecho Bético hace 10-8 Ma promovió la divergencia del ancestro de *Alytes obstetricans* respecto del ancestro común a *Alytes maurus*, *A. dickhilleni* y *A. muletensis*. Posteriormente, la apertura del Estrecho de Gibraltar hace unos 5,3 Ma provocó el aislamiento del ancestro de *Alytes maurus* en el Rif, y del ancestro común a *Alytes dickhilleni* y *Alytes muletensis*. Hace unos tres Ma el antecesor de *Alytes muletensis* se estableció en Mallorca y Menorca (ARNTZEN & GARCÍA-PARÍS, 1995, 1997; MARTÍNEZ-SOLANO ET AL., 2004), sobreviviendo *Alytes muletensis* en Mallorca hasta la actualidad (FIGURA 1.9)

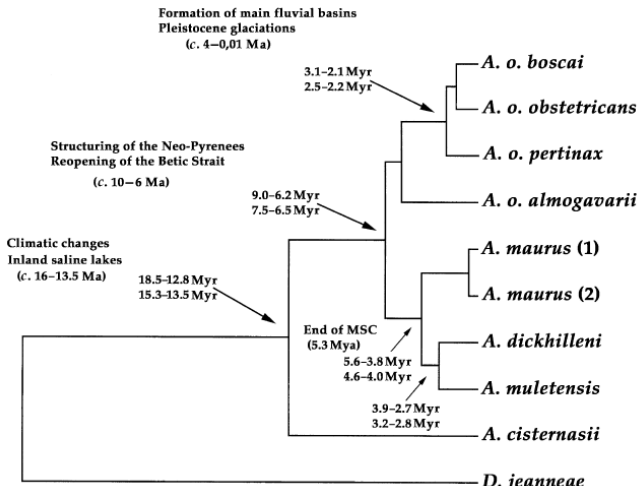


FIGURA 1.9. Relaciones filogenéticas dentro de *Alytes*. En los nodos se muestran las estimas temporales para las divergencias, así como los supuestos eventos vicariantes que dieron lugar a estas diferencias (MARTÍNEZ-SOLANO ET AL., 2004)

(HARRISON & HASTINGS, 1996). En la metapoblación clásica todas las poblaciones que la forman son igualmente propensas a la extinción local y la metapoblación persiste a través de la recolonización. Este es el caso en el que nos encontraríamos con las poblaciones de un torrente, que están conectadas aguas arriba y/o aguas abajo. Sin embargo en el modelo de no equilibrio en el que las poblaciones están débilmente conectadas y la extinción local no se equilibra con la recolonización, llevando a la extinción total, sería el caso de todas las poblaciones, que se encuentran sin conexión con el resto.

1.5. BIOLOGIA TRÓFICA Y REPRODUCTIVA

1.5.1. Biología trófica

No hay estudios específicos sobre la dieta del ferreret en estado adulto. La alimentación parece ser exclusivamente a base de artrópodos como insectos, arácnidos y probablemente isópodos. En cautividad consume cualquier artrópodo que pueda caber en la boca, incluidos insectos y pequeños crustáceos terrestres (MARTÍNEZ-RICA ET AL., 1984; TONGE & BLOXMAN, 1989; ROMÁN & MAYOL, 1997).



FIGURA 1.11. Larvas alimentándose de un cadáver de *Rattus rattus* (izquierda) y una larva alimentándose de las algas y otros organismos que componen el hiponeuston (derecha)

Las larvas se alimentan preferentemente raspando las algas que crecen sobre las paredes rocosas y en la superficie de la lámina del agua. También son muy buenas filtradoras, pero no rechazan cualquier resto orgánico que caiga en las pozas como cadáveres tanto de vertebrados (FIGURA 1.11) como de invertebrados (VIERTEL, 1984A, 1984B; ROMÁN & MAYOL, 1995; GARCÍA-PARÍS ET AL., 2004).

1.5.2. Biología de la reproducción

Utilizan como lugares de reproducción las pozas permanentes de torrentes cársticos y algunas pequeñas albercas cubiertas y abrevaderos (ALOMAR & REYNÉS, 1991). El período reproductor es largo y tiene lugar entre los meses de marzo a septiembre, siendo los meses de mayo a julio los de mayor actividad.

El período de reproducción se inicia con las llamadas o cantos de cortejo. Ambos sexos emiten llamadas, aunque no necesariamente sean llamadas de cortejo (LEA ET AL., 2002B). En los machos la talla corporal se correlaciona positivamente con la duración de la llamada y negativamente con la frecuencia dominante. En las hembras no se han detectado correlaciones entre la talla y los parámetros de su llamada (BUSH, 1997).

El canto de los machos afecta al estado reproductivo de las hembras, teniendo un efecto de estímulo sobre su fisiología reproductiva (LEA ET AL., 2001). Los cantos de los machos se oyen desde finales de febrero hasta principios de septiembre. El canto es crepuscular-nocturno, desde las 19:00 a las 6:00 h GMT, con un máximo sobre medianoche y un período mínimo a las 2:00 h. aunque no hay un período de inactividad diurna completa, ya que en primavera y verano los machos pueden cantar a cualquier hora del día. Las hembras también cantan, para atraer a los machos, sin embargo, el canto de la hembra es más corto y menos potente, repitiéndose a mayor velocidad. La duración media de la llamada es, en machos de 102,2 ms y en hembras de 61,6 ms. La media de frecuencias dominantes es, en machos de 1,82 KHz y en hembras de 1,74 KHz, y la media de llamadas es de 18,3 llamadas/min en los machos y 43,8 llamadas/min en las hembras. La intensidad de las llamadas es significativamente mayor en las hembras (media 58,0 dB) que en los machos (41,3 dB) (BUSH, 1993; ROMÁN & MAYOL, 1997).

En cautividad, los machos inician los cantos dentro de una grieta o debajo de una roca, respondiendo una hembra grávida, acercándose al macho y tocando al macho frontalmente, a lo que sigue inmediatamente el *amplexus* inguinal. Hay competencia entre las hembras durante el cortejo, ya que si no consiguen la fecundación, en unos tres días hacen una puesta

no fértil. La forma más usual de competencia entre las hembras es la interferencia durante el cortejo, aunque ocasionalmente pueden llegar a producirse peleas. También hay competencia entre los machos (Bush, 1996a). Los machos no muestran preferencia por hembras con cantos de baja frecuencia (BUSH ET AL., 1996). Las hembras no muestran tampoco preferencia por machos más grandes, caracterizados por llamadas de baja frecuencia y larga duración, pero sí por machos con llamadas más rápidas (DYSON ET AL., 1998).

Después del *amplexus* las hembras transfieren a los machos la puesta y, tras un período de desarrollo terrestre variable (19 a 64 días desde el *amplexus*, BUSH, 1993), las larvas están completamente formadas dentro de los huevos y entonces el macho se acerca al agua para soltar la puesta. El tamaño de puesta es el más bajo del género *Alytes*: un promedio de diez huevos por puesta (rango: 7-24) (FIGURA 1.12). Las puestas dobles son raras y solamente el 12-14% de los machos reciben una segunda puesta durante los tres días siguientes después de recibir la primera (BUSH, 1993, 1996B). Sin embargo, el tamaño del huevo es muy grande (4,3-7 mm de longitud y 3,9-5,4 mm de anchura), casi el doble que en *A. obstetricans* (ALCOVER ET AL., 1984).

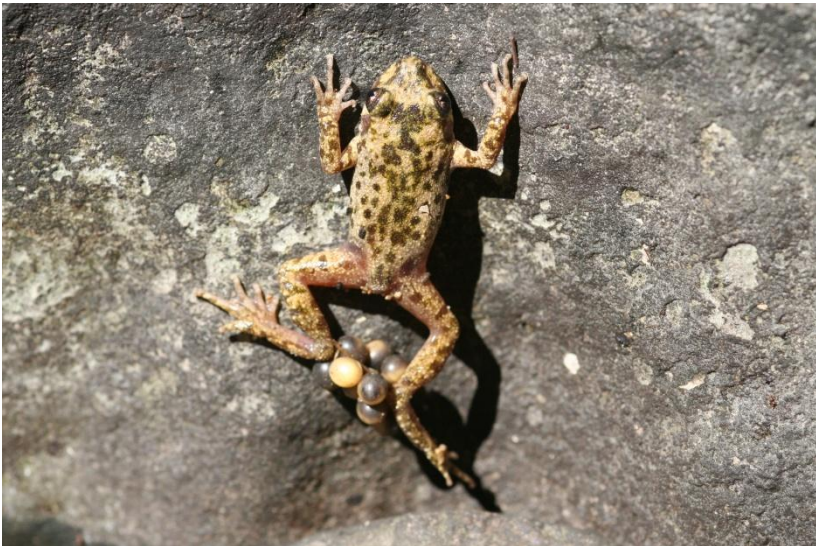


FIGURA 1.12. Macho de *A. mulletensis* cargando una puesta simple al mismo tiempo que escala en una pared vertical

A partir de Febrero se observa un incremento de larvas que alcanza un máximo entre julio-agosto, a partir del cual desciende hasta presentar un mínimo en octubre-marzo (ROMÁN &

MAYOL, 1997). El crecimiento de las larvas y la fenología larvaria están relacionados con el tipo de punto de reproducción. Se ha observado que en pozas y albercas soleadas donde la temperatura del agua es elevada en verano tienen la metamorfosis al final del verano, quedando prácticamente vacías en octubre. Mientras que en las pozas de torrentes y albercas, donde la profundidad es mayor y la temperatura más baja, muchas larvas permanecen durante el invierno en el agua, incrementando su talla pero metamorfoseándose a principios del verano siguiente. Las densidades de larvas en las pozas pueden llegar a ser muy elevadas, produciéndose competencia entre las larvas grandes que invernan y las recién eclosionadas (LEA ET AL., 2002A).

1.6. DEPREDACIÓN, PARASITISMO Y ENFERMEDADES EMERGENTES

1.6.1. Depredación

El principal agente depredador es la culebra viperina, *Natrix maura*, que consume tanto larvas como adultos, si bien actúa mayoritariamente sobre la población larvaria debido a sus hábitos acuáticos (ALCOVER ET AL., 1984; ROMÁN & MAYOL, 1997). Está comprobada la depredación de *Pelophylax perezi* sobre individuos metamórficos (BUSH, 1993) y de larvas de odonatos y coleópteros acuáticos sobre las larvas (FIGURA 1.13, SCHLEY, 1996) y se considera posible el consumo de adultos por parte de *Mustela nivalis*, *Macroprotodon mauritanicus*, *Tyto alba*, *Falco tinnunculus* o *Otus scops* (ROMÁN & MAYOL, 1997). Se ha observado ejemplares de *P. perezi* capturando ferrerets adultos, y se han detectado ejemplares aislados de *Martes martes* rebuscando en los refugios en los que se encuentran los juveniles agrupados después de la metamorfosis a la espera de su dispersión juvenil, por lo que potencialmente también podrían considerarse como una especie potencialmente depredadora (FIGURA 1.14).

La introducción de *N. maura* en época romana a partir de ejemplares del SE de Francia (GUICKIN ET AL., 2006) y la coexistencia con *A. muletensis*, ha propiciado la presencia de estrategias antidepredatorias frente a su principal predador. Las larvas son capaces de detectar señales químicas de *N. maura* (SCHLEY & GRIFFITHS, 1998).



FIGURA 13. Ejemplar de *Meladema coriacea* (Dityscidae) depredando sobre una larva de *A. muletensis*



FIGURA 14. Ejemplar de *Martes martes* (Mustelidae) capturado con fototrampa a finales de agosto en un lugar de concentración de juveniles y en el momento previo a la dispersión de individuos metamórficos

Así, se ha comprobado que la presencia de *N. maura* en las pozas de reproducción provoca en las larvas tanto cambios morfológicos como de etológicos. Las larvas sometidas a la presencia de *N. maura* presentan la cola más larga y más deprimida, pero con una musculatura más potente (KRAAIJEVELD-SMIT ET AL., 2006B) También el desarrollo larvario es más acelerado que en situación de ausencia de *N. maura*, provocando una metamorfosis temprana en relación a su tamaño corporal. (GRIFFITHS ET AL., 1998; MOORE, 2002; MOORE ET AL., 2004A).

1.6.2. Parasitismo

Parásitos intestinales

Se han localizado hasta 10 taxones diferentes en poblaciones naturales y cautivas de *Alytes muletensis* (TABLA 1.2). Los primeros estudios llevados a cabo fueron realizados en

poblaciones cautivas (ROCA ET AL., 1998), determinándose un total de 10 taxones diferentes (cuatro especies diferentes de *Coccidia* sp.). Mientras que las poblaciones naturales fueron estudiadas después en un nuevo trabajo (ROCA ET AL., 2004) en el que fueron determinados un total de ocho taxones diferentes (tres especies diferentes de *Coccidia* sp.).

| | Taxon | Poblaciones naturales | Cautividad |
|--------------------|--|-----------------------|------------|
| Nematoda | <i>Cosmocercidae</i> gen. Sp. (larvae) | | √ |
| | <i>Strongyloides</i> sp (larvae) | √ | |
| | <i>Rhabdias</i> sp (larvae) | √ | √ |
| | <i>Oswaldocruca filiformis</i> (eggs) | √ | √ |
| | <i>Strongyloides</i> sp. (eggs) | | √ |
| Ciliophora | <i>Nyctotherus</i> sp. | | √ |
| | <i>Nyctotherus cordiformis</i> | √ | |
| | <i>Balantidium</i> sp. (cysts) | | √ |
| | <i>Protoopalina</i> sp. | √ | |
| Apicomplexa | <i>Coccidia</i> sp. | √ | √ |

TABLA 1.2. Especies parásitas intestinales localizadas en poblaciones silvestres y cautivas de *A. muletensis* (ROCA ET AL., 1998, 2004)

1.6.3. Enfermedades emergentes

Las enfermedades emergentes han supuesto una causa de amenaza de gran importancia en gran parte de las especies de anfibios afectando a más de 350 especies alrededor del mundo (FISHER ET AL., 2009). A menudo estas enfermedades están relacionadas con el cambio global, como ocurre con el hongo patógeno *Batrachochytrium dendrobatidis* (LONGCORE, PESSIER & NICHOLS, 1999; POUNDS ET AL., 2006). En España, los primeros indicios de la presencia de esta especie de hongo parásito fueron detectados en masas de agua de montaña (BOSCH ET AL., 2001). En Mallorca, los primeros indicios de la presencia de *B. dendrobatidis* fueron confirmados en el año 2005 (MAYOL & OLIVER, 2009), aunque no fue hasta 2008 cuando se publican los hallazgos a la comunidad científica (OLIVER ET AL., 2008A; WALKER ET AL., 2008). En el período 2005-2008 el equipo del Museo Nacional de Ciencias Naturales de Madrid analizó el 90% de la población larvaria silvestre, así como todas las larvas, subadultos o adultos encontrados muertos (MAYOL & OLIVER, 2009).

El hongo fue detectado en cuatro localidades (5, 6, 15A y 15B). La localidad 5 presenta una prevalencia de *B. dendrobatidis* del 50-100 % y sufre una caída paulatina de sus poblaciones (ver FIGURA 2.17, página 44). La localidad 6, con la misma prevalencia, no sufre en cambio una caída tan drástica como en la localidad 5 (FIGURA 1.18). En las localidades 15A y 15B sólo se detectó la presencia de *B. dendrobatidis* en el año 2007, si bien con % de prevalencia muy baja, y desde 2009 no se ha vuelto a detectar en estas dos localidades (MAYOL & OLIVER, 2009).

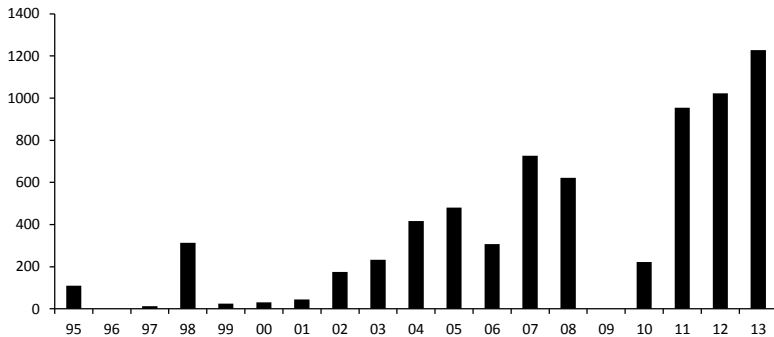


FIGURA 18. Evolución de la población larvaria en la localidad 6 durante el período 1995-2013

El origen de la presencia de *B. dendrobatidis* se atribuye a los programas de cría en cautividad contemplados en el I Plan de Recuperación. A principio de los años 90 se crearon nuevas poblaciones procedentes de la cría en cautividad en tres de las cuatro localidades infectadas. En esos años se murieron en el zoológico de Jersey ejemplares de *A. muletensis* por motivos desconocidos. Aunque no fue hasta la década del 2000 cuando se supo que el causante fue *B. dendrobatidis*, especie que no fue descubierta por la ciencia hasta finales de los años 90 (LONGCORE ET AL., 1999; MAYOL & OLIVER, 2009; WALKER ET AL., 2008).

1.7. EVOLUCIÓN DEL CONOCIMIENTO

1.7.1. El ferreret, una especie diana para la ciencia

El hallazgo de poblaciones vivas de *A. muletensis* (entonces *Baleaphryne muletensis*) tuvo tal repercusión que fue considerado uno de los descubrimientos herpetológicos europeos más destacables de la segunda mitad del siglo XX (HEMMER & ALCOVER, 1984). Según estos autores el último género descubierto en la fauna batracológica europea, hasta el descubrimiento del ferreret fue *Chioglossa* BOCAGE 1820, un urodelo perteneciente actualmente a la familia *Salamandridae*, y la última especie descubierta fue *Pelodytes caucasicus* BOULENGER 1896 (FIGURA 1.15). Aunque con la llegada de las técnicas moleculares un gran número de especies fue descrito con posterioridad al descubrimiento del ferreret.



FIGURA 1.15. Ejemplares de *Chioglossa lusitanica* BOCAGE 1864 (izquierda) y *Pelodytes caucasicus* BOULENGER 1896 (derecha).

Es por ello que al tratarse de una especie nueva para la ciencia se convirtió en poco tiempo en el centro de las miradas de científicos y naturalistas. Con gran acierto, los descubridores y la administración ambiental española priorizaron la conservación de la especie y regularon el acceso científico a las poblaciones naturales. Así, recién descubierta la especie se promovió una investigación sistemática y coordinada, con la intención de poder obtener la máxima información básica con el mínimo de ejemplares capturados en la naturaleza. De esta forma los mismos individuos eran estudiados sucesivamente por los distintos especialistas. Como fruto de todo este trabajo, el Dr. H. HEMMER y el Dr. J.A. ALCOVER editaron bajo el paraguas de la Editorial Moll la primera y única monografía científica sobre el *ferreret* que aglutinó el conocimiento sobre la biología y ecología de la especie hasta ese momento (FIGURA 1.16). Este trabajo supuso el inicio de la producción científica aplicada a la gestión de la especie.



FIGURA 1.16. Portada de la obra *Història Biològica del Ferreret* (*Life History of the Mallorcan Midwife Toad*). Publicada por la Editorial Moll.

1.7.2. La internacionalización del conocimiento

El impulso de científicos internacionales, principalmente de origen británico, supuso la internacionalización del conocimiento sobre la biología y ecología del ferreret, convirtiéndose en una especie diana para estudios aplicados a la Biología de la Conservación.

Los primeros trabajos estaban relacionados con los objetivos prioritarios en el I Plan de Recuperación, la cría en cautividad con la finalidad de creación de nuevas poblaciones. Así, destacan los trabajos enfocados a la estabulación y cría en cautividad realizados en los años 80 (TONGE, 1986; TONGE & BLOXMAN, 1989) y en décadas posteriores a los éxitos cosechados con estas acciones de conservación del programa de recuperación (BULEY & GARCÍA, 1997; BULEY & GONZÁLEZ-VILLAVICENCIO, 2000).

La siguiente etapa de conocimiento vino marcada por los estudios sobre biología de la reproducción, enmarcados en la tesis doctoral de Sara L. Bush (BUSH, 1993) y los trabajos publicados *a posteriori* (BUSH, 1996A, 1996B, 1997; BUSH ET AL., 1996; BUSH & DELL, 1997; DYSON ET AL., 1998). En estos trabajos participaron Miranda L. Dyson y Timothy Halliday, que posteriormente ampliarían en colaboración con Jerry Lea entre 2001-2003, publicando más trabajos sobre biología reproductiva del sapo partero balear (BUSH ET AL., 1996; DYSON ET AL., 1998; LEA ET AL., 2001, 2002B, 2003).

Otra tesis doctoral, la de Laurent Schley (SCHLEY, 1996) y los trabajos publicados posteriormente sobre los patrones de comportamiento de larvas y de éstas frente a depredadores, constituyó un nuevo avance en el conocimiento de la especie (GRIFFITHS ET AL., 1998; SCHLEY & GRIFFITHS, 1998; SCHLEY ET AL., 1998). Schley trabajó conjuntamente con Richard Griffiths, que amplió las relaciones ecológicas con *N. maura* con las aportaciones de Robin Moore, que defendió su tesis doctoral sobre el impacto de especies introducidas (MOORE, 2002). Fruto de esta tesis, se publicaron varios trabajos sobre la relación depredador-presa (GUICKIN ET AL., 2006; MOORE ET AL., 2004A, 2004B).

Mención aparte merecen los trabajos sobre genética realizados por Femmie J.L. Kraaijeveld-Smit con la colaboración de Richard Griffiths y Trevor Beebee (Kraaijeveld-Smit et al., 2003, 2005, 2006a), que complementaron los trabajos sobre biogeografía realizados por Cristian R. Altaba (ALTABA, 1997) e Iñigo Martínez-Solano (MARTÍNEZ-SOLANO ET AL., 2004).

Finalmente, cabe destacar los trabajos sobre enfermedades emergentes focalizados sobre la presencia de *B. dendrobatidis* con implicación de investigadores como Susan Walker, Andrew Cunningham y Jaime Bosch (OLIVER ET AL., 2008A, 2008B; WALKER ET AL., 2008; GARNER ET AL., 2009) (FIGURA 1.17).



FIGURA 1.17. Los investigadores Matthew Fisher, Jaime Bosch y Susan Walker durante una vista a una localidad infectada por *B. dendrobatidis*

1.7.3. El Grupo Internacional de Trabajo

Uno de los grandes logros que ha permitido avanzar en el conocimiento de la especie ha sido el favorecimiento del intercambio científico y naturalístico de todos los equipos que tienen al *ferreret* como objeto de sus estudios científicos. Así, desde los años 90, se celebra con una periodicidad de 2-3 años una reunión con todos los gestores y científicos, tanto de instituciones como investigadores expertos, que de una u otra forma trabajan para la conservación del ferreret. Hasta la fecha se han realizado un total de ocho jornadas técnicas. En estas jornadas se debate sobre la situación actual de la especie, se presentan los nuevos hallazgos sobre la biología y ecología de la misma, sobre la gestión de las poblaciones



silvestres y diferentes cuestiones que puedan afectar a la conservación del sapo partero balear (FIGURA 1.19).

FIGURA 1.19. V Reunión Técnica para la Conservación del Ferreret (2005). De izquierda a derecha Manel Aresté, Samuel Pinya, Xavier Manzano, Joan Antoni Oliver Valls, Richard Griffiths, Gerardo García, Jaime Bosch y Joan Mayol.

1.8. GESTIÓN Y CONSERVACIÓN

1.8.1. Instrumentos de gestión

1.8.1.1. Protección y catalogación de la especie

Como se ha comentado anteriormente, el sapo partero balear fue incluido dentro del listado de especies protegidas a nivel nacional sin que fuera aún conocida su existencia por la comunidad científica (Real Decreto 3182/1980 de 30 de diciembre).

A nivel mundial, actualmente la especie está catalogada como Vulnerable (D2) en la Lista Roja de las Especies Amenazadas de la IUCN, justificado porque su área de ocupación es menor de 20 km², por lo que es sensible a actividades humanas o sucesos estocásticos que podrían ponerla en peligro en un corto período de tiempo. Si bien anteriormente estuvo, hasta el año 2008, bajo la categoría de En Peligro Crítico (CR) (MAYOL ET AL., 2009). El descenso de categoría se ha puesto en cuestión por parte de la comunidad científica y conservacionista, teniendo en cuenta que las amenazas de la especie se han incrementado aún más si cabe con la presencia de *B. dendrobatidis* en las poblaciones silvestres desde 2006 (OLIVER ET AL., 2008; WALKER ET AL., 2008).

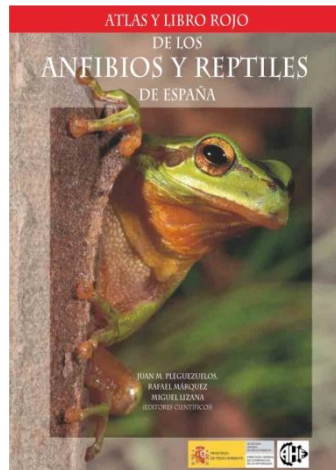


FIGURA 1.20. Portada del Atlas y Libro Rojo de los Anfibios y Reptiles de España (PLEGUEZUELOS ET AL., 2002).

A nivel Español, la especie está catalogada como En Peligro Crítico (CR) en el Libro Rojo de los Anfibios y Reptiles de España (ROMÁN, 2002), mientras que en el Libro Rojo de los vertebrados de las Islas Baleares se desciende de nuevo la categoría a Vulnerable (D2) (VIADA, 2005). Además la especie está catalogada como En Peligro de Extinción en el Catálogo Nacional de Especies Amenazadas desde 1991, en el Apéndice II del convenio de Berna y en los Anexos II y IV de la Directiva Hábitats de la UE.

1.8.1.2. Espacios Naturales Protegidos

El hábitat de la especie fue motivo de declaración del Paraje Natural de la Sierra de Tramuntana (2007) y del Monumento Natural del Torrent de Pareis, Lluc y Gorg Blau (2003). Así mismo, todas las localidades naturales que habitan en torrentes cársticos se encuentran incluidos dentro de la Red Natura 2000 de las Islas Baleares, concretamente fueron motivo de declaración tres LIC y tres LIC y ZEPA por la presencia de *A. muletensis* y el hábitat del mismo (TABLA 1.3).

| Código | Espacio Natural | Tipología |
|-----------|--|-------------------|
| ES0000073 | Costa Brava de Mallorca | LIC & ZEPA |
| ES0000225 | Sa Costera | LIC & ZEPA |
| ES5310027 | Cimals de la Serra | LIC & ZEPA |
| ES5310028 | Es Binis | LIC |
| ES5310085 | Moncaire | LIC |
| ES5310092 | Muntanyes de Pollença | LIC |
| | Paratge Natural de la Serra de Tramuntana | Paraje Natural |
| | Monument Natural del Torrent de Pareis, Lluc i Gorg Blau | Monumento Natural |

TABLA 1.3. Espacios naturales que se han creado para la protección de *A. muletensis* y el hábitat en el que se encuentra

Así mismo, las localidades de *A. muletensis* están catalogadas e incluidas en el Plan Hidrológico Balear, lo que le confiere a la especie, si cabe, un estado de protección mayor. Y, todas las localidades del sapo partero balear se encuentran incluidas bajo la figura autonómica de protección urbanística conocida como Área Natural de Especial Interés (ANEI), que regula la Llei 1/1991, de 30 de enero.



FIGURA 1.21. Vista aérea del Monumento Natural del Torrent de Pareis, Lluc i Gorg Blau

Finalmente, el II Plan de Recuperación crea una figura de protección del espacio físico ocupado por la especie y su cuenca inmediata, asimilable a una microreserva, el Area Biológica Crítica (ABC). En este espacio se prohíbe cualquier actividad que pueda modificar las características biológicas, físico-químicas y caudal del agua de escorrentía. Se califican como ABC todas las localidades con poblaciones naturales e introducidas en torrentes, declarando

un total de 13, así como cualquier localidad que resulte positiva en un futuro para *B. dendrobatidis*.

1.8.1.3. Planes de recuperación

El Primer Plan de Recuperación

Bajo la responsabilidad del Gobierno de las Islas Baleares, se redactó el Primer Plan de Recuperación (CRIADO ET AL., 1991), vigente *de facto* hasta 2007, cuyo propósito básico consistía en asegurar un nivel de población y de distribución que garantizase la continuidad como elemento estable de la fauna balear, aunque presentaba los siguientes objetivos operativos:

- Determinar la evolución demográfica en cada una de las poblaciones.
- Mantener un seguimiento de los hábitats.
- Actuar en el caso de un episodio de regresión rápida de la población y corregir sus causas.
- Establecer la cría en cautividad de la especie y liberar ejemplares para incrementar la población.
- Otorgar a la especie y al hábitat la protección legal necesaria.
- Mejorar el conocimiento de la especie.

El Plan de Recuperación consiguió financiación europea dentro del programa LIFE (1993-1997), con unos 2.400.000 € que se utilizaron en su mayor parte en la compra de una finca en la que se han llevado a cabo introducciones de la especie (MAYOL & OLIVER, 2009)

El segundo Plan de Recuperación (2007-2012)

El primer plan de recuperación fue ejecutado sin que sus objetivos y acciones propuestas fueran formalmente publicados en boletín oficial (Resolución del Conseller de Medi Ambient de 30 de julio de 2007). Gracias a ese plan se había conseguido reunir mucha información acerca de la cría en cautividad y los depredadores naturales, pero seguía habiendo lagunas importantes en el conocimiento de la demografía de la especie. Además durante la redacción del segundo plan surgieron los primeros casos positivos de presencia de *B. dendrobatidis* que debían tenerse en cuenta (SERVEI DE PROTECCIÓ D'ESPÈCIES, 2007). Así, los objetivos y actuaciones a cumplir fueron las siguientes:

- Garantizar la conservación de las poblaciones y hábitats.

- Crear nuevos puntos de reproducción, incluyendo nuevas localidades como la Sierra de Llevant y Menorca.
- Mejorar el conocimiento de la especie.
- Promover el seguimiento y control de enfermedades emergentes.
- Promover la divulgación y la sensibilización.

No se indican resultados del II Plan de Recuperación ya que actualmente se están evaluando dichos resultados con la finalidad de mejorar la siguiente versión de plan de recuperación.

1.8.2. La conservación *ex-situ*

1.8.2.1. Reproducción en cautividad

En 1985 ya tuvieron lugar pequeñas translocaciones. Éstas tenían lugar tanto dentro de un mismo torrente, para evitar la desecación prematura y muerte de las larvas, como entre cuencas diferentes, así como intentos de repoblación en nuevas localidades. En los años 1984 y 1985 se fundaron las primeras colonias cautivas de la especie en los zoológicos de Jersey y Stuttgart. La primera reproducción en cautividad data del año 1982, y en 1987 en la primera colonia cautiva con fines de reintroducción en Stuttgart. En 1988 se liberaron las primeras larvas en algunos torrentes de Mallorca (MAYOL & OLIVER, 2009).

Después de conocer su supervivencia, desde 1985 se desarrollan medidas de recuperación, incluida la cría en cautividad y posterior liberación en la naturaleza (ROMÁN & MAYOL, 1995, 1997; BULEY & GARCÍA, 1997; BULEY & GONZÁLEZ-VILLAVICENCIO, 2000; GRIFFITHS ET AL., 2008; MOORE & GRIFFITHS, 2008; OLIVER ET AL., 2009;). Mediante un acuerdo entre el Gobierno Balear y el Jersey Wildlife Preservation Trust, se estableció un programa de cría en cautividad para el que se capturaron 20 ejemplares de una localidad (MAYOL ET AL., 2008) En total, entre 1985 y 2002 se liberaron 2.577 larvas y 1.847 adultos criados en cautividad (OLIVER ET AL., 2009)

Desde 2002 no se liberan ejemplares procedentes de cría en cautividad, ante el riesgo de las enfermedades emergentes, aunque se mantienen los núcleos cautivos como reserva genética y para educación ambiental.

1.8.2.2. Gestión de enfermedades emergentes

Una vez que quedó confirmada la presencia del hongo en poblaciones de *ferret*, se aprobó como medida de contención una norma que incluye la prohibición de acceso y tránsito por las áreas afectadas según el Acuerdo de Consejo de Gobierno de 17 de marzo de 2006 (FIGURA 1.22). También se informó a excursionistas y clubes deportivos sobre el contenido de la nueva norma y sobre el peligro que suponía tal enfermedad para la especie. Finalmente se facultó a la Conselleria para ampliar dichas áreas en caso de nuevos casos positivos (MAYOL & OLIVER, 2009).

Varias experiencias en cautividad con ejemplares enfermos de quitridiomycosis permitieron hallar mecanismos de desinfección de *B.dendrobatidis*, utilizando productos como el antifúngico Itraconazol (GARNER ET AL., 2009).



FIGURA 1.22. Cartel de restricción del acceso en una de las zonas afectadas por *B. dendrobatidis*

1.8.2.3. Educación y divulgación ambiental

Como parte activa de los planes de recuperación, la educación y divulgación ambiental siempre ha sido un eje prioritario con actuaciones específicas dirigidas sobretudo a la

población insular. Destacan diferentes publicaciones divulgativas sobre la especie dirigidas a niños y niñas en edad escolar como por ejemplo cuadernos educativos (FIGURA 1.23).

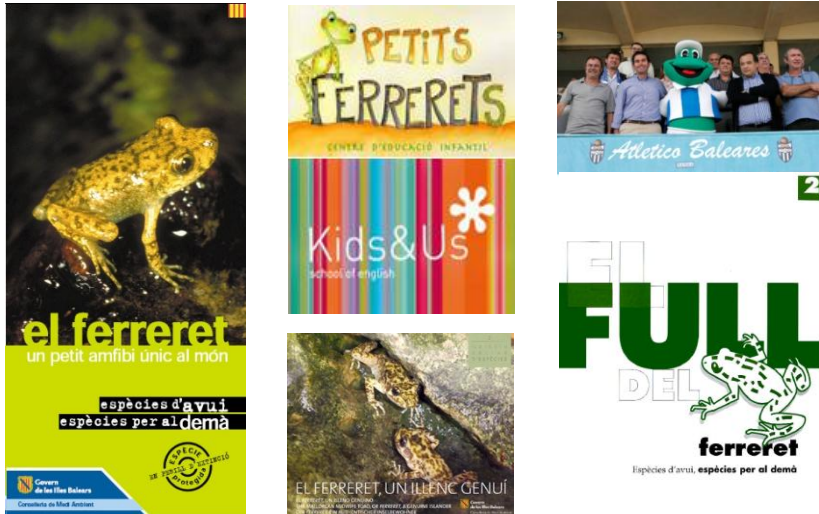


FIGURA 1.23. Imágenes de publicaciones sobre la divulgación del ferreret. La imagen de la esquina superior derecha corresponde a la mascota del Club de Futbol Balears que representa un ferreret.

1.8.3. La conservación *in-situ*

1.8.3.1. El seguimiento de las poblaciones

Uno de las actuaciones clave para la gestión de la especie es el seguimiento de todas las poblaciones existentes. Para ello se realizaron unas primeras estimas de población larvianas basadas en el conteo de individuos en los años 1981, 1982, 1985 y 1989, si bien no fue hasta el año 1991 en que se estableció el carácter anual del censo poblacional larvario y ha sido repetido hasta la actualidad y sin interrupción desde entonces.

El método de conteo no pretende estimar la población larvaria, dado que éste infravalora la población larvaria real. Sin embargo, pretende obtener un parámetro comparable en el tiempo siempre que se realice en las mismas condiciones, con el que establecer tendencias poblacionales y evaluar el estado de conservación.

El conteo se realiza los meses de junio y julio, momento que se estableció como el período del año en que las pozas presentan un mayor número de larvas. Así, durante este período se

visitan todas las localidades conocidas y se realiza un conteo larvario de manera visual en todos los puntos de reproducción que pertenecen a la misma localidad. Hay localidades que presentan un único punto de cría, mientras que otras presentan más de 20.

Para realizar el conteo es necesario la utilización de linternas acuáticas, gafas de bucear y, en ocasiones, dependiendo de la temperatura del agua, un traje de submarinismo que proteja al observador de las bajas temperaturas (FIGURA 1.24). En el conteo se registran el número de larvas localizadas, las características del punto de recuento (dimensiones, transparencia (0-5), % del agua), la presencia de depredadores naturales, de vegetación natural, y otra información que pueda ser de interés (Figura 1.25).




FIGURA 1.24. La utilización de linterna (izquierda) y gafas de buceo (derecha) es necesario para el censo de la población de larvas existentes de la especie.

Toda la información registrada en estos 24 años de seguimiento se encuentra recogida en el archivo del Servicio de Protección de Especies de la Conselleria de Agricultura, Medio Ambiente y Territorio del Gobierno de las Islas Baleares, y permite un conocimiento único de la especie.

1.8.3.2. Creación y mantenimiento de poblaciones

Durante el primer Plan de Recuperación se duplicaron el número de localidades. Así, en el año 1991 había 12 localidades con presencia de *A. muletensis*, mientras que en el año 1997 había 24 y posteriormente, durante el segundo Plan de Recuperación, se incrementó también su número (ROMÁN & MAYOL, 1995). Generalmente se aprovecharon depósitos y abrevaderos para el ganado que fueron restaurados y adaptados para albergar una población de *ferrerets*, en lo que denominamos en esta tesis localidades artificiales, dado que se utilizaron construcciones antrópicas para acoger poblaciones silvestres.



Govern de les Illes Balears
Conselleria de Medi Ambient

Fitxa de camp: FERRERET

ALLIBERAMENT CONTROL N.º _____

RECOMPTE HORA: _____ DATA: _____

TORRENT: _____

GORG: _____ N.º _____

| | 1a | 2a | Adults |
|--------------------|----|----|--------|
| Número d'individus | | | |

DADES DEL GORG: % AIGUA: _____

AMPLE: _____ m. PROFUNDITAT: _____ m.

LLARG: _____ m. TRANSPARÈNCIA DE

L'AIGUA (0-5) _____

ALTRES ESPÈCIES ANIMALS n.º aprox.

| | |
|--|--|
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |

VEGETACIÓ cobertura %

| | |
|--|--|
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |

| DEPREDADORS I COMPETIDORS | N.º aprox. | Retirats | Mostra |
|---------------------------|------------|----------|--------|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

OBSERVACIONS:

ANALISIS D'AIGUA

| | | | | |
|---------------|--|--|--|--|
| N.º MOSTRA | | | | |
| VOLUM | | | | |
| T.º | | | | |
| Ph | | | | |
| CONDUCTIVITAT | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

OBSERVADOR:

FIGURA 1.25. Imagen del estadillo de campo utilizado para el seguimiento de la especie



FIGURA 1.26. Algunas de las acciones realizadas para el mantenimiento de poblaciones: retirada de sedimento para evitar colmatación (arriba, izquierda), impermeabilización de depósito (arriba derecha) o colocación de un protector para evitar la evaporación (abajo)

Dada la tipología de estas localidades, era necesario el mantenimiento continuado, consistente en evitar su colmatación, la pérdida de agua por evaporación o por permeabilización del depósito (FIGURA 1.26). Ahora bien, había nuevas localidades, como las que se encontraban en torrentes cársticos, que no requerían de un mantenimiento excesivo.

1.8.3.3. Control de depredadores

N. maura ha sido el depredador introducido al que se le ha prestado una mayor atención, en parte debido a su impacto sobre las poblaciones de *A. muletensis*. Durante el período 1991-2014 se han retirado un total de 130 ejemplares de *N. maura* de forma manual (FIGURAS 27 y 28) de un total de 15 localidades. De todas ellas más del 70 % de las capturas corresponden a tres localidades (1.A, 22.31 %; 4.A, 27,69 % y 11.A, 22.31 %).

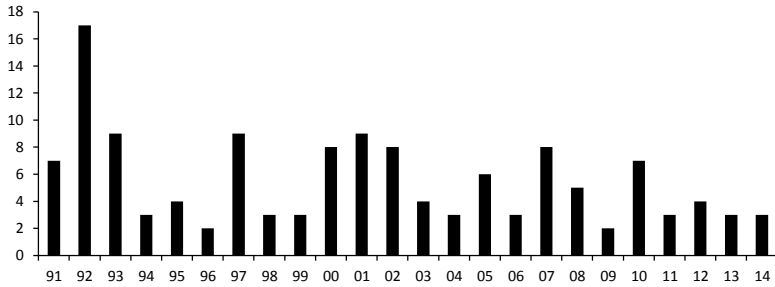


FIGURA 1.27. Evolución de la retirada de ejemplares de *N.maura* en el período 1991-2014. Fuente Govern de les Illes Balears



FIGURA 1.28. Captura manual de una hembra adulta de *N.maura*

1.8.4. Estado de las poblaciones actuales

En 2009 el estado de las poblaciones de *A. muletensis* motivó que tomara la decisión de descender de categoría de la IUCN, pasando de En Peligro Crítico a Vulnerable. Este descenso estuvo motivado por el incremento del número de poblaciones y la evolución de la población global de la especie, entre otros factores (MAYOL ET AL., 2009, FIGURA 29), siendo la población global la determinada por el número de larvas presentes en cada punto de reproducción y localidades en un mismo año. Esta misma tendencia positiva la tienen el conjunto de las poblaciones naturales (FIGURA 1.30) y el conjunto de las poblaciones artificiales (FIGURA 1.31).

En relación al número de adultos reproductores presentes se desconoce el número de integrantes de la población global, si bien OLIVER ET AL. (2009) estima que en 2009 habría un total de 3.900 adultos, a partir de un hipotético ratio de 10 larvas / adulto.

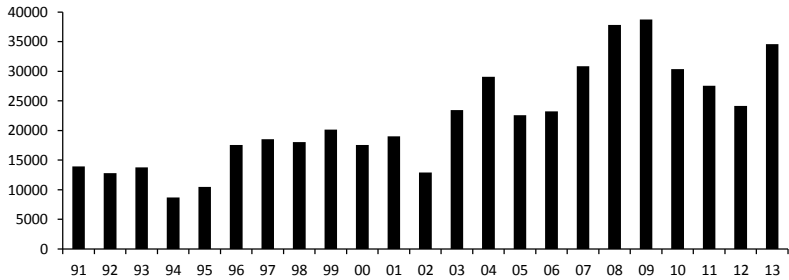


FIGURA 1.29. Evolución de la población larvaria en todas las localidades con presencia de la especie entre 1991-2013. Fuente: Govern de les Illes Balears

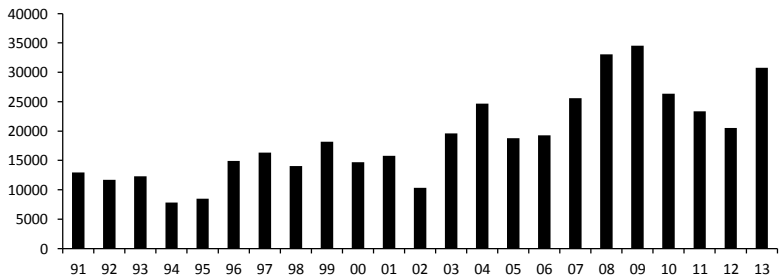


FIGURA 1.30. Evolución de la población larvaria en las localidades naturales con presencia de la especie entre 1991-2013. Fuente: Govern de les Illes Balears

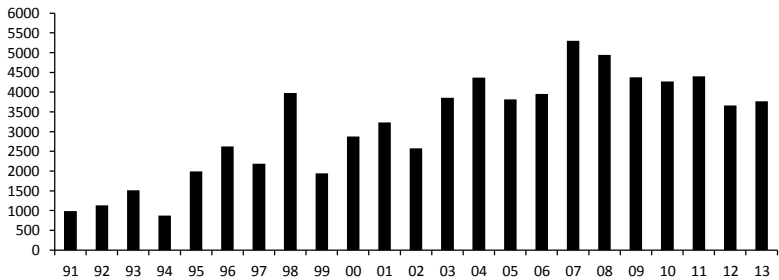


FIGURA 1.31. Evolución de la población larvaria en las localidades naturales con presencia de la especie entre 1991 y 2013. Fuente Govern de les Illes Balears



CAPÍTULO II MATERIAL Y MÉTODOS COMUNES



2.1. LOCALIDADES DE ESTUDIO

Actualmente la población de *A. muletensis* se encuentra repartida en un total de 40 localidades (FIGURA 1.6), con un número que varía en función de los puntos de reproducción condicionados por diferentes factores como la disponibilidad de agua, o la presencia de depredadores como *N. maura*. En el marco de la tesis doctoral se han visitado un total de 21 localidades específicamente para la realización de los diferentes trabajos. La selección de una localidad u otra ha estado condicionada por la disponibilidad y posibilidad de visita, dado que en una gran parte de ellas era necesario la presencia de personal con conocimientos y formación en descenso de barrancos. En función de las visitas que se han realizado a cada localidad se ha podido extraer información para los diferentes estudios realizados (TABLA 2.1, FIGURA 2.1)

| Código | Identificación individual | Tamaño de puesta | Tamaño y condición corporal | Dimorfismo sexual | Determinación de la edad y crecimiento | Molestias durante la reproducción | Malformaciones | Ciclo vital |
|--------|---------------------------|------------------|-----------------------------|-------------------|--|-----------------------------------|----------------|-------------|
| 1.A | | ✓ | | | | | | |
| 1.A. | | ✓ | | | | | | |
| 1.B | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | | |
| 1.C | | ✓ | | | | | | |
| 1.D | | ✓ | | | | | | |
| 2.B | | ✓ | | | | | | |
| 4.A | | | | | ✓ | ✓ | | |
| 4.B | | ✓ | | | ✓ | | | |
| 4.C | | ✓ | | | | | | |
| 5 | | ✓ | | | | | | |
| 7.A | | | | ✓ | ✓ | | | |
| VII.B | | ✓ | | ✓ | ✓ | | | |
| VII.C | | ✓ | | | ✓ | | | |
| 8.B | | ✓ | ✓ | | ✓ | | | |
| VIII.B | | ✓ | ✓ | | ✓ | | | |
| 11.A | | | | | ✓ | | | |
| XI.A | | ✓ | | | ✓ | | | |
| 15.A | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | ✓ | |
| 15.B | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | | |
| XVI | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | | ✓ |
| XIX.B | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | |

TABLA 2.1. Relación de localidades silvestres visitadas con indicación de trabajo realizado en cada una de ellas. Se ha suprimido la toponimia de las localidades y se ha substituido por el código por el que se la conoce en el marco del Plan de Recuperación de la especie, con el fin de no divulgar la ubicación de las mismas.

A continuación se detallan las características de cada una de las localidades e información disponible de cada una de ellas.

2.1.1. Localidad 1.A

Localidad natural original situada en un barranco cárstico con un total de 14 puntos de reproducción y una población larvaria media de $3.210,91 \pm 2.378,75$ (207-10.249) (FIGURA 2.2). Se trata de una población con crecimiento positivo, si bien con incrementos y descensos en forma de diente de sierra. Esta localidad ha sido visitada además de para el recuento larvario anual en el marco del Plan de Recuperación, para la obtención de información sobre el tamaño de puesta en poblaciones silvestres.

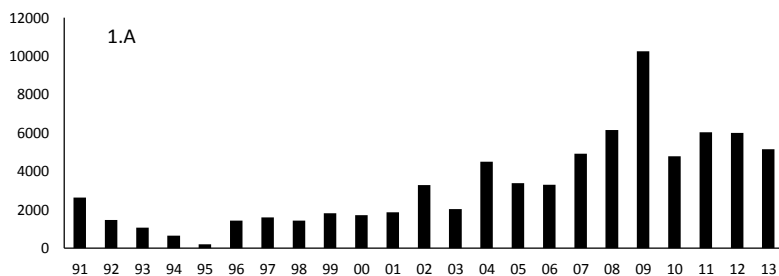


FIGURA 2.2. Evolución de la población larvaria en la localidad 1.A. en el período 1991-2013. Fuente: Govern de les Illes Balears

2.1.2. Localidad I.A

Localidad artificial original situada en dos aljibes cubiertos y con dos puntos de reproducción y una población larvaria media de $377,26 \pm 201,92$ (100-797) larvas (FIGURAS 2.3 y 2.4). Se trata de una población con crecimiento positivo. Esta localidad ha sido visitada además de para el recuento larvario anual, para la obtención de información sobre el tamaño de puesta en poblaciones silvestres, la diferencia de tamaños y condiciones corporales, dimorfismo sexual y determinación de la edad y crecimiento de la especie.

2.1.3. Localidad 1.B

Localidad natural introducida con cuatro puntos de reproducción y una población larvaria media de $660,28 \pm 572,76$ (10-1930) larvas (FIGURAS 2.5 y 2.6). Se trata de una población con crecimiento negativo. Esta localidad ha sido visitada además de para el recuento larvario anual, para la obtención de información sobre el tamaño de puesta en poblaciones silvestres.

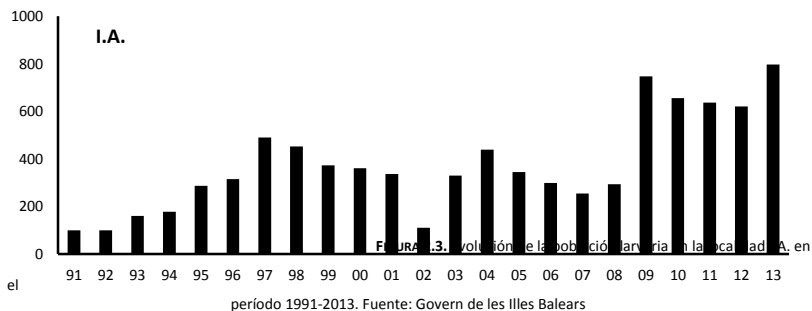
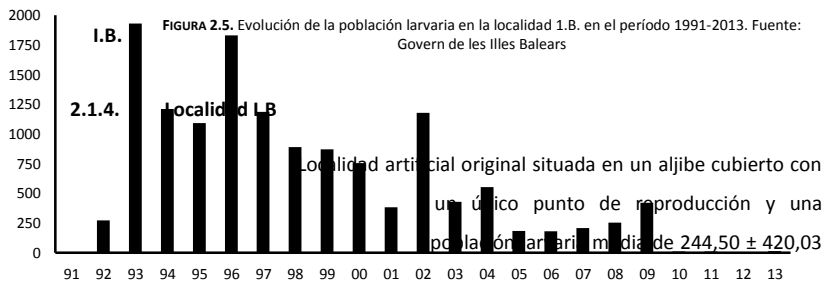


FIGURA 2.4. Localidad I.A.1 (izquierda) y I.A.2 (derecha)



(0-1510) larvas (FIGURAS 2.7 y 2.8). Se trata de una población que en los últimos años ha sufrido un crecimiento negativo. Esta localidad ha sido visitada además de para el recuento



larvario anual en el marco del Plan de

Recuperación, para la obtención de información sobre el tamaño de puesta en poblaciones silvestres.

FIGURA 2.6. Detalle del exterior (izquierda) y el interior (derecha) la localidad I.B.

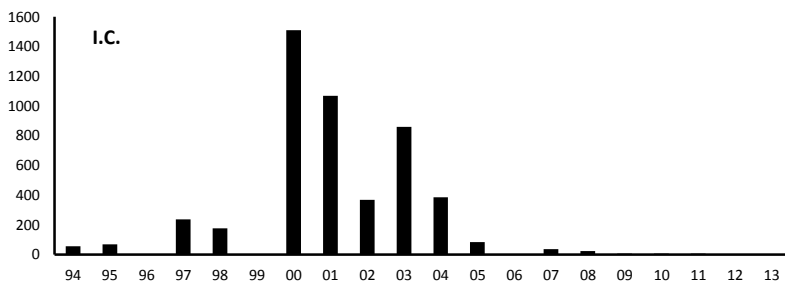


FIGURA 2.7. Evolución de la población larvaria en la localidad I.C. en el período 1994-2013. Fuente: Govern de les Illes Balears

FIGURA 2.8. Detalle de la localidad I.C

2.1.5. Localidad I.D

Localidad artificial original situada en un aljibe cubierto y con un punto de reproducción y una población larvaria media de $90,57 \pm 151,72$ (0-420) (FIGURAS 2.9 y 2.10). Se trata de una población con grandes



oscilaciones poblacionales aunque negativas en los últimos años. Esta localidad ha sido visitada además de para el recuento larvario anual en el marco del Plan de Recuperación, para la obtención de información sobre el tamaño de puesta en poblaciones silvestres.

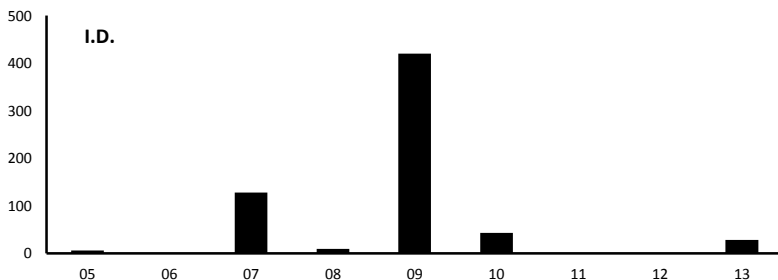


FIGURA. 2.9. Evolución de la población larvaria en la localidad I.D en el período 2005-2013. Fuente: Govern de les Illes Balears



FIGURA. 2.10. Localidad I.D

2.1.6. Localidad 2.B

Localidad natural original con cuatro puntos de reproducción y una población larvaria media de $1230,86 \pm 448,75$ (599-2054) (FIGURA 2.11). Se trata de una población con oscilaciones poblacionales importantes. Esta localidad ha sido visitada además de para el recuento larvario anual, para la obtención de información sobre el tamaño de puesta en poblaciones silvestres.

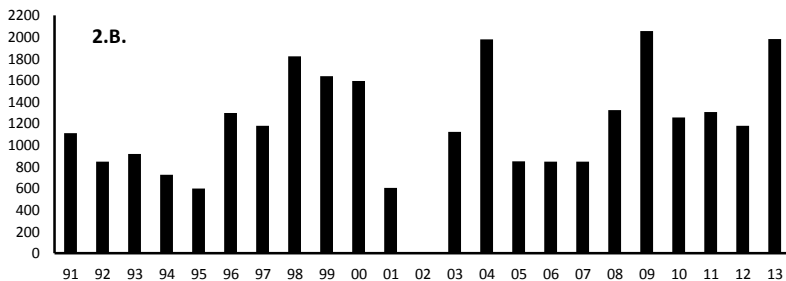


FIGURA 2.11. Evolución de la población larvaria en la localidad 2.B. en el período 1991-2013. Fuente: Govern de les Illes Balears

2.1.7. Localidad 4.A

Localidad natural original con 11 puntos de reproducción y una población larvaria media de $1189,65 \pm 797,12$ (180-3034) (FIGURAS 2.12 y 2.13). Se trata de una población con crecimiento negativo que, aparentemente, se está recuperando en los últimos 10 años. Esta localidad ha sido visitada además del recuento larvario anual, para la obtención de información sobre la determinación de la edad y crecimiento de la especie y las molestias sobre la reproducción.

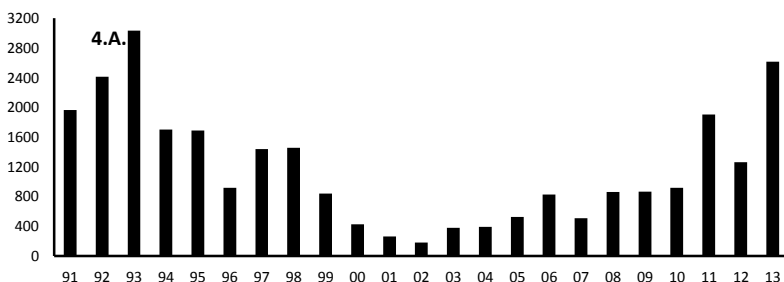


FIGURA 2.12. Evolución de la población larvaria en la localidad 4.A. en el período 1991-2013. Fuente: Govern de les Illes Balears

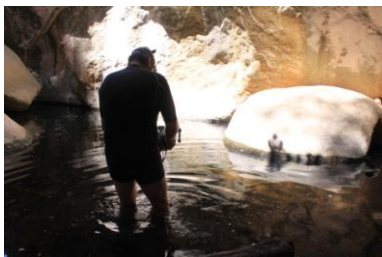


FIGURA 2.13. Una poza de la localidad 4.A

2.1.8. Localidad 4.B

Localidad natural original compuesta por 13 puntos de reproducción y una población larvaria media de $639,52 \pm 421,40$ (163-1602). (FIGURAS 1.21, 2.14 y 2.15). Se trata de una población con crecimiento irregular que en los últimos años parece recuperarse. Esta localidad ha sido visitada además del recuento larvario anual, para la obtención de información sobre el

tamaño de puesta en poblaciones silvestres y determinación de la edad y crecimiento de la especie.

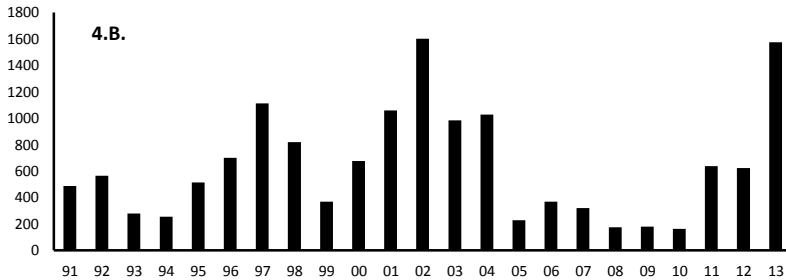


FIGURA 2.14. Evolución de la población larvaria en la localidad 4.B. en el período 1991-2013. Fuente: Govern de les Illes Balears



FIGURA 2.15. Visión general al fondo de la localidad, desde su desembocadura (izquierda) y de las paredes verticales de la localidad 4.B. en su parte más estrecha.

2.1.9. Localidad 4.C

Localidad natural original con tres puntos de reproducción y una población larvaria media de $675,75 \pm 579,66$ (4-1671) (FIGURA 2.16). Se trata de una población con crecimiento positivo en los últimos años. Esta localidad ha sido visitada además del recuento larvario anual, para la obtención de información sobre el tamaño de puesta en poblaciones silvestres.

2.1.10. Localidad 5

Localidad natural introducida con cinco puntos de reproducción y una población larvaria media de $719,30 \pm 629,99$ (0-2275) (FIGURAS 2.17, y 2.18). Se trata de una población con crecimiento negativo. Esta localidad ha sido visitada además del recuento larvario anual en el

marco del Plan de Recuperación, para la obtención de información sobre el tamaño de puesta en poblaciones silvestres y determinación de la edad y crecimiento de la especie.

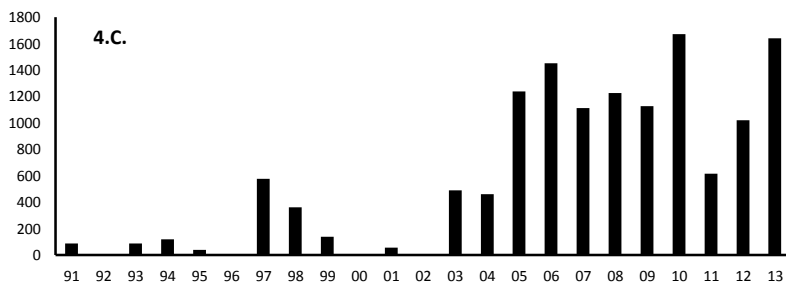


FIGURA 2.16. Evolución de la población larvaria en la localidad 4.C en el período 1991-2013. Fuente: Govern de les Illes Balears

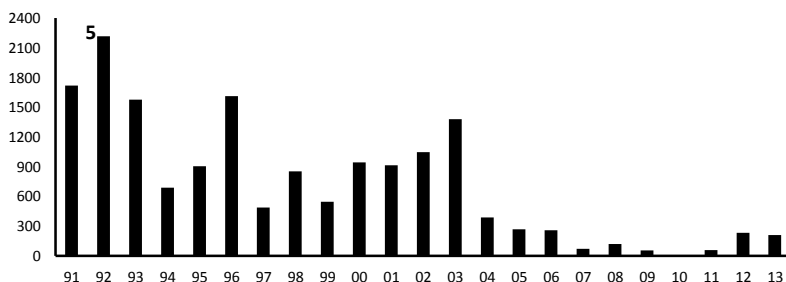


FIGURA 2.17. Evolución de la población larvaria en la localidad 5 en el período 1991-2013. Fuente: Govern de les Illes Balears

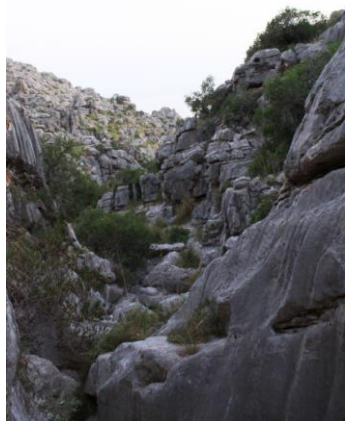


FIGURA 2.18. Visión general de la localidad 5

2.1.11. Localidad 7.A

Localidad natural original compuesta por tres puntos de reproducción y una población larvaria media de $1005,87 \pm 760,00$ (110-2864) (FIGURAS 2.19, y 2.20). Se trata de una población con crecimiento positivo. Esta localidad ha sido visitada además del recuento larvario anual, para la obtención de información sobre dimorfismo sexual y determinación de la edad y crecimiento de la

especie.

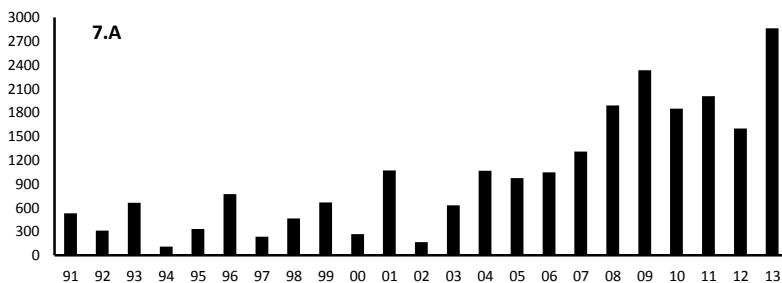


FIGURA 2.19. Evolución de la población larvaria en la localidad 7.A. en el período 1991-2013. Fuente: Govern de les Illes Balears



FIGURA 2.20. Dos secciones de la localidad 7.A.

2.1.12. Localidad VII.B

Localidad situada en un depósito artificial hecho aprovechando las paredes naturales de la roca, con un único punto de reproducción y una población larvaria media de $72,42 \pm 67,66$ (0-173) (FIGURAS 2.21, y 2.22). Se trata de una población con crecimiento negativo. Esta localidad ha sido visitada además del recuento larvario anual, para la obtención de información sobre el tamaño de puesta en poblaciones silvestres, el dimorfismo sexual y determinación de la edad y crecimiento de la especie.

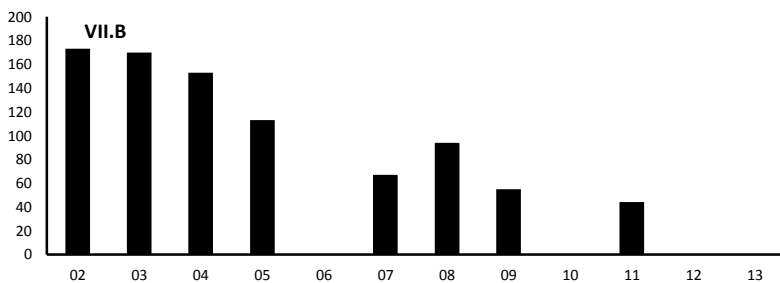


FIGURA 2.21. Evolución de la población larvaria en la localidad VII.B en el período 2002-2013. Fuente: Govern de les Illes Balears



FIGURA 2.22. Interior de la localidad VII.B

2.1.13. Localidad VII.C

Localidad artificial situada en un aljibe descubiertos, con un único punto de reproducción y una población larvaria media de $67,67 \pm 112,97$ (0-303) (FIGURAS 1.25B y 2.23). Se trata de una población con crecimiento negativo en los últimos años. Esta localidad ha sido visitada además del recuento larvario anual, para la obtención de información sobre el tamaño de puesta en poblaciones silvestres.

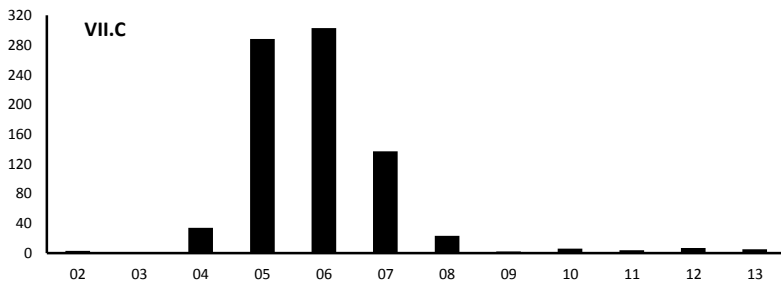


FIGURA 2.23 Evolución de la población larvaria en la localidad VII.C en el período 2002-2013. Fuente: Govern de les Illes Balears

2.1.14. Localidad 8.B

Localidad natural y original compuesta por diez puntos de reproducción y una población larvaria media de $1773,30 \pm 799,35$ (571-3397) (FIGURAS 2.24 y 2.25). Se trata de una población con oscilaciones poblacionales importantes, y con un crecimiento negativo en los últimos años. Esta localidad ha sido visitada además del recuento larvario anual, para la obtención de información sobre el tamaño de puesta en poblaciones silvestres, la diferencia de tamaño y condición corporal y determinación de la edad y crecimiento de la especie.

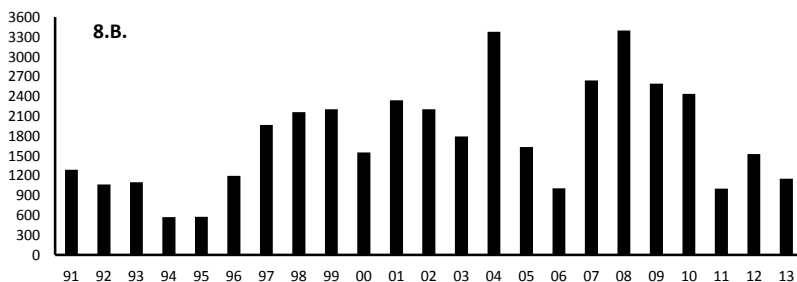


FIGURA 2.24. Evolución de la población larvaria en la localidad 8.B. en el período 1991-2013. Fuente: Govern de les Illes Balears



FIGURA 2.25. Visión general de varias pozas de la localidad VII.B

2.1.15. Localidad VIII.B

Localidad artificial introducida compuesta por un único punto de reproducción excavado en la roca y una población larvaria media de $492,25 \pm 314,01$ (15-932) (FIGURAS 2.26 y 2.27). Se trata de una población con crecimiento positivo. Esta localidad ha sido visitada además del recuento larvario anual, para la obtención de información sobre el tamaño de puesta en poblaciones silvestres, la diferencia de tamaño y condición corporal y determinación de la edad y crecimiento de la especie.

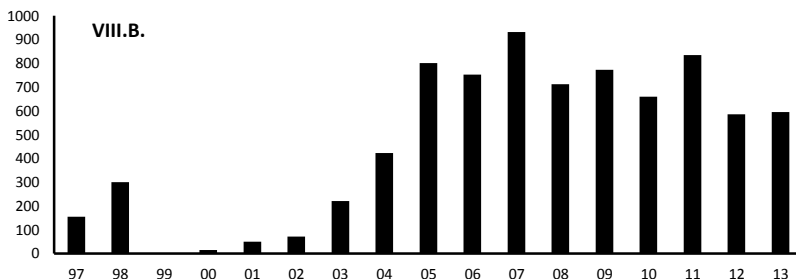


FIGURA 2.26. Evolución de la población larvaria en la localidad VIII.B en el período 1991-2013. Fuente: Govern de les Illes Balears

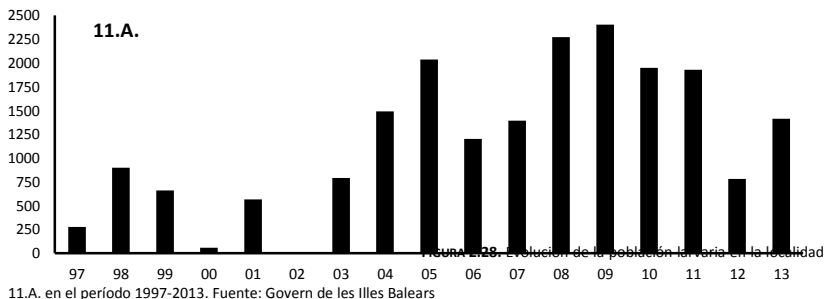


FIGURA 2.27. Visión general de la localidad VIII.B

2.1.16. Localidad 11.A

Localidad natural introducida compuesta por diez puntos de reproducción y una población larvaria media de $1256,87 \pm 720,86$ (57-2404) (FIGURAS 2.28 y 2.29). Se trata de una población

con oscilaciones poblacionales significativas. Esta localidad ha sido visitada además del recuento larvario anual en el marco del Plan de Recuperación, para la obtención de información sobre la determinación de la edad y crecimiento de la especie.



11.A. en el período 1997-2013. Fuente: Govern de les Illes Balears



FIGURA 2.29. Visión de uno de los descensos a realizar para llegar a una poza de reproducción en la localidad 11.A

2.1.17. Localidad XI.A

Localidad artificial introducida compuesta por un aljibe cubierto y un único punto de reproducción y una población larvaria media de $49,73 \pm 61,41$ (0-208) (FIGURAS 2.30 y 2.31). Se trata de una población con oscilaciones poblacionales importantes y con un crecimiento en los últimos años. Esta localidad ha sido visitada además del recuento larvario anual en el marco del Plan de Recuperación, para la obtención de información sobre el tamaño de puesta en poblaciones silvestres y la determinación de la edad y crecimiento de la especie.

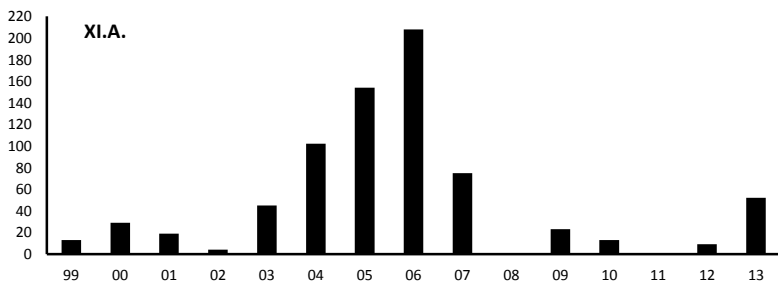


FIGURA 2.30. Evolución de la población larvaria en la localidad XI.A en el período 1999-2013. Fuente: Govern de les Illes Balears



FIGURA 2.31. Visión exterior (izquierda) e interna (derecha) de la localidad XI.A

2.1.18. Localidad 15.A

Localidad natural introducida situada en un barranco cárstico compuesto por un único punto de reproducción y una población larvaria media de $950,95 \pm 659,96$ (114-2312) (FIGURAS 2.32 y 2.33). Se trata de una población con importantes oscilaciones poblacionales. Esta localidad ha sido visitada además del recuento larvario anual, para la obtención de información sobre el tamaño de puesta en poblaciones silvestres, diferencia de tamaño y condición corporal, dimorfismo sexual y determinación de la edad, crecimiento de la especie y estudio de malformaciones.

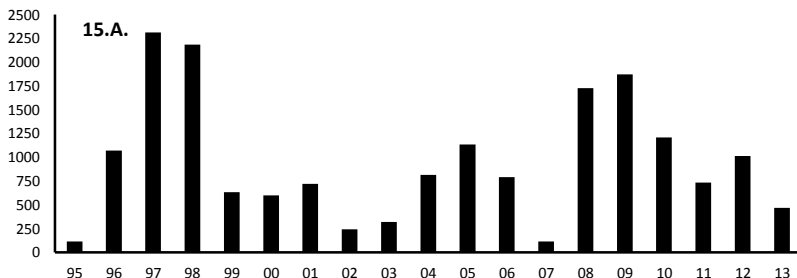


FIGURA 2.32. Evolución de la población larvaria en la localidad 15.A. en el período 1995-2013

2.1.19. Localidad 15.B

Localidad natural introducida localizada en un barranco cárstico con un único punto de reproducción y una población larvaria media de $205,28 \pm 178,53$ (3-599) (FIGURA 2.34). Se trata de una población con importantes oscilaciones poblacionales. Esta localidad ha sido visitada además del recuento larvario anual en el marco del Plan de Recuperación, para la obtención de información sobre el tamaño de puesta en poblaciones silvestres, el dimorfismo sexual y determinación de la edad y crecimiento de la especie.

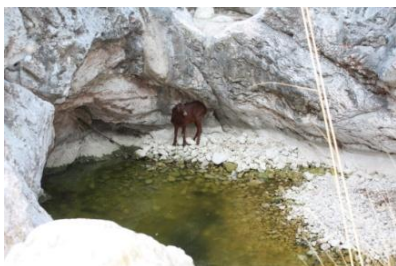


FIGURA 2.33. Localidad 15.A. A la izquierda se puede observar la presencia de una cabra que lo utiliza como punto para abastecerse de agua. Con cierta frecuencia se mueren por imposibilidad de salir y el agua se eutrofiza tomando coloraciones verde-oscura (derecha) y dificultando el recuento larvario.

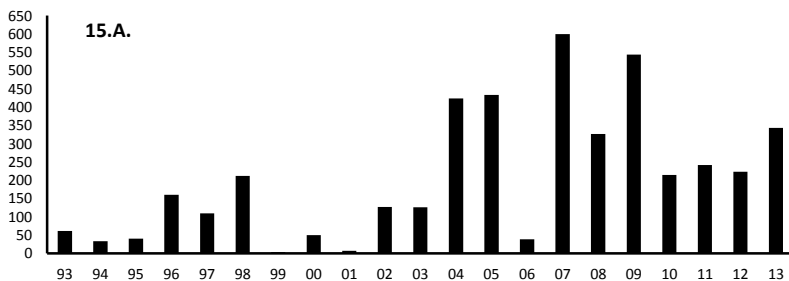


FIGURA 2.34. Evolución de la población larvaria en la localidad 15.B. en el período 1993-2013. Fuente: Govern de les Illes Balears

2.1.20. Localidad XVI

Localidad artificial introducida compuesta por un aljibe doble con un único punto de reproducción y una población larvaria media de $635,26 \pm 393,08$ (19-1414) (FIGURAS 2.35 y 2.36). Se trata de una población con crecimiento positivo. Esta localidad ha sido visitada

además del recuento larvario anual, para la obtención de información sobre el tamaño de puesta en poblaciones silvestres, la diferencia de tamaño y condición corporal, dimorfismo sexual, determinación de la edad y crecimiento de la especie y el ciclo vital.

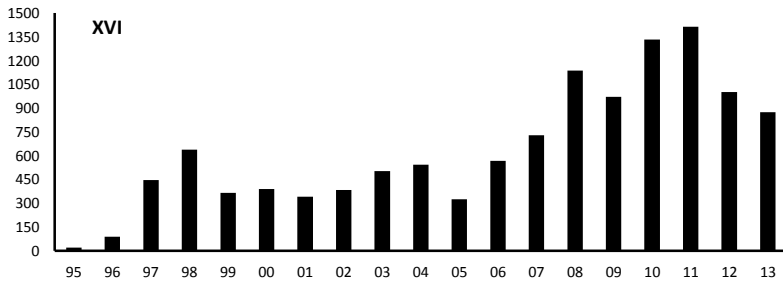


FIGURA 2.35. Evolución de la población larvaria en la localidad XVI en el período 1993-2013. Fuente: Govern de les Illes Balears



FIGURA 2.36. Interior (izquierda) y exterior (derecha) de la localidad XVI

RESULTADOS



CAPÍTULO III IDENTIFICACIÓN INDIVIDUAL Y SEXUAL



PINYA S. & PÉREZ MELLADO V. (2009). Individual identification and sexual dimorphism in the endangered Balearic Midwife Toad, *Alytes muletensis* (Sanchíz and Adrover, 1981). *Amphibia-Reptilia* 30: 439-443.

Abstract

The Majorcan Midwife Toad (*Alytes muletensis*) is an endemic and threatened species of the island of Mallorca which has been the subject of a large number of studies. However, there is a lack of information about the adult fraction of wild populations. Here we show the first step to increase the knowledge of adult Majorcan midwife toads, how to recognize them individually and how to distinguish between males and females. We tested with satisfactory results a photoidentification method that can be used to identify adults individually. In order to sex individuals in the wild we carry out a morphological study with fourteen variables building a discriminant function which allow us to sex all captured adults.

Keywords: *Alytes muletensis*, Balearic Islands, discriminant function, individual identification, sexual dimorphism

Introduction

The Majorcan midwife toad (*Alytes muletensis*) is an endemic species from Mallorca Island (Balearic Islands, Spain) that is classified as Vulnerable (VU D2) by the Red List of Threatened Species (IUCN, 2008). Since *A. muletensis* was discovered, much effort has been done in order to conserve this emblematic amphibian species. Several studies on morphology (CLARKE, 1984; MAYOL ET AL., 1984), distribution (MOORE ET AL., 2004b), genetics (KRAAIJEVELD-SMIT ET AL., 2003, 2005), reproduction (BUSH, 1996A; BUSH & DELL, 1997) and behaviour (GRIFFITHS ET AL., 1998; LEA

ET AL., 2001, 2003; SCHLEY ET AL., 1998) have been carried out. But in spite of this amount of information, there is a lack of data from adult fractions of wild populations.

The darker tones of amphibians as well as brown and black shades are produced by melanin, usually found in skin melanophores (STEBBINS & COHEN, 1995). The back colour pattern of *A. muletensis*, is based on olive green to dark spots or shades over, most frequently, a golden yellow background. These spots are generally small sized and could be isolated or connected among them, even in some cases forming a network of spots.

In some vertebrate species the colour pattern can help to recognize individually the members of a population, and these patterns are considered similar to digital finger prints (DONNELLY ET AL., 1994). In mammal species like *Hydrurga leptonyx*, *Eschrichtius robustus* (FORCADA & ROBINSON, 2006) or in amphibian as *Bombina bombina*, *Bufo calamita*, *Mesotriton alpestris* and *Lissotriton helveticus* (MEYER & GROSSE, 1997; STREICH ET AL., 1997; WINKLER & HEUNISCH, 1997) patterns of back or belly spots were employed as an individual identification tool.

Currently, the sex of *A. muletensis* was determined observing males carrying eggs masses and pregnant females from which eggs were detected through transparent skin of the abdominal region (MAYOL ET AL., 1984). Thus, individuals outside that condition were not sexed.

On the other hand, some species of midwife toads as *Alytes obstetricans* and *Alytes cisternasii*, show a morphological dimorphism between sexes. This fact allowed a comparison of the morphological characteristics of males and females and the construction of discriminant functions for sex identification of adults (BOSCH & MÁRQUEZ, 1996). Employing these functions, further information about sex ratios and population structure could be obtained.

Material and methods

To identify individually adult toads, an introduced population (XIX.B*) was studied during the breeding period. This population was created in 1997 during the first Recovery Plan (ROMÁN & MAYOL, 1997) from adults and tadpoles born in captivity at the Durrell Wildlife Trust (United Kingdom). During 2005 and 2006, a total of 67 adults were captured and photographed with a Cannon EOS 20D digital camera. With all photographs a digital image database of back colour patterns was created.

In addition from 2005 to 2007, seven natural and introduced populations of *A. muletensis* from Tramuntana mountain range of Mallorca Island (included the XIX.B* population, the most south-western locality of the existing ones) and one captive population were surveyed. During each visit, all adults found were captured, sexed if possible and a picture of their back pattern was taken. To find the adults we used a spotlight and once the adult was found we used a blunt thin plastic stick which was introduced in the hole where the adult was hidden and it was extracted carefully. In all cases, individuals were released immediately after taking the information. Only males that carried egg masses and were recaptured without them later and gravid females with developed and visible eggs were used for the study. In the case of males their manipulation was delicate when they were carrying egg masses because it could cause an accidental loss of the egg mass. Occasionally, some adults could not be sexed in the first visit due to the risk of losing the egg mass, although some of them were successfully sexed in following sampling periods.

In this way, we were able to sex 25 males and 55 females. These data do not represent the sex ratio of the populations because the males counted are only the ones that were recaptured, and not the quantity of males of the populations.

To obtain a classification of individuals of unknown sex, a discriminant analysis was employed, obtaining a discriminant function for each sex. All statistical analyses were done with Statistica (ver. 6.0).

In both sexes, individuals with a snout to vent length under 30 mm were discarded because they were not considered within the adult age class (PINYA, UNPUB. DATA). Fourteen measurements were taken (TABLE 3.1) with a digital caliper (0.01 mm of accuracy). All bilateral measurements were taken at the right side, excepting in a single individual lacking its right arm.

Results and discussion

None studied individual had the same back pattern. Each toad has its own pattern of spots or group of black spots. Five different types of back patterns could be observed after the analysis of the image database: IS: Isolated, DT: Dotted, NT: Network, TKP: Thick paintbrush, TNP: Thin paintbrush (see FIGURE 3.1). The TKP and the TNP types were the most frequent patterns with

a 41.79% and a 34.33% of the observed cases, followed by DT (17.91%), NT (4.48%) and IS (1.49%).

| Morphometric character | |
|------------------------|---|
| SVL | Snout to vent length |
| JW | Jaw width |
| JL | Jaw bottom length |
| ED | Minimum distance between eyes |
| HDT | Horizontal diameter of tympanum |
| EW | Eye width |
| ND | Distance between nostrils |
| END | Minimum distance between eye and nostril |
| EFD | Distance from elbow to 3 rd finger tip |
| KUL | Knee to urostyle length |
| TFL | Tibia/fibula length |
| HTD | Distance from heel to 3 rd toe tip |
| HL | Humerus length |
| UL | Ulna length |

TABLE 3.1. Measured morphometric characters and their abbreviations.

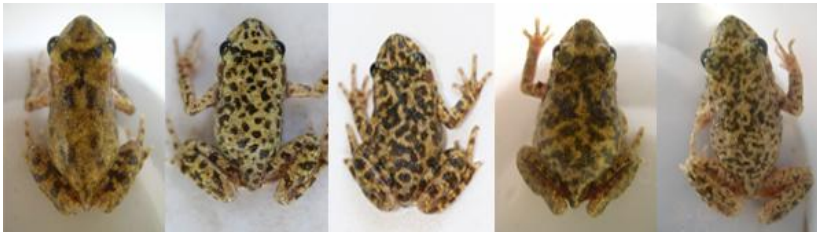


Figure 3.1. Different types of observed back patterns. From left to right: isolated, dotted, network, thick paintbrush and thin paintbrush.

Statistical parameters of morphological variables measured are shown in TABLE 3.2. After applying the Bonferroni correction ($P < 0.003$) only horizontal diameter of tympanum (HDT) out of 14 measurements showed significant differences between sexes, but also snout to vent length (SVL) show marginal significant differences.

To obtain a system of classification for individuals of unknown sex, a discriminant analysis was applied (see TABLE 3.2 for results obtained). Two groups of values were obtained in order to construct two discriminant functions, one for males and one for females. Replacing in functions with measurement values of each variable, we obtain two different values; one falls within male’s function and the other to female’s ones.

The biggest value shows the gender of the individual. We employed the following functions:

$$\begin{aligned} \mathbf{X_{male}} = & -180.598 - 6.159 \times LC + 9.048 \times ED + 9.523 \times ND + 1.458 \times HW + 1.845 \times JL + 1.645 \times \\ & KUL + 7.761 \times TFL + 5.335 \times HTD - 1.331 \times HL + 2.717 \times UL - 1.440 \times EFD + 14.347 \times \\ & HDT + 23.889 \times EW + 6.778 \times END \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \mathbf{X_{female}} = & -173.223 - 4.036 \times LC + 7.508 \times ED + 11.405 \times ND + 5.825 \times HW - 2.139 \times JL + 2.113 \\ & \times KUL + 5.449 \times TFL + 5.252 \times HTD - 1.135 \times HL + 1.131 \times UL - 0.455 \times EFD + 2.601 \\ & \times HDT + 18.267 \times EW + 6.286 \times END. \end{aligned}$$

After applying the discriminant function, 100% of individuals of known sex were correctly classified. None of the individuals studied at the XIX.B* locality had the same back pattern. Thus, the technique of photoidentification from the back patterns can be used to identify adults of this species. However, further studies are required to test if the method is reliable for individuals from different populations.

Females of *A. muletensis*, are slightly larger than males, as we can see in the values of SVL ($P < 0.007$). The same fact happens in *A. obstetricans* or *A. cisternasii* (BOSCH & MÁRQUEZ, 1996) and in most of anurans (SHINE, 1979).

On the other hand, males have a larger HDT comparing with females ($P < 0.000$). In this species both sexes produce advertisement calls during the mating season (BUSH, 1997). Females only call when they are in advanced gravid state or in danger to lose egg masses. Their advertising calls are shorter and produced with a lower intensity than male's calls (BUSH & DELL, 1997). The difference of the size on HDT could be related with the intensity of the mating calls. In this way, males will be able to detect easily calls emitted in a lower intensity by females, because of having a bigger hearing reception surface.

Discriminant functions obtained from individuals of known sex allow classifying correctly adult toads. Actually, the percentage of correct classification, 100%, was higher than for other *Alytes*: 95% in *A. obstetricans* and 97.56% in *A. cisternasii* (BOSCH & MÁRQUEZ, 1996), though in both cases the function were done only with four variables in *A. obstetricans* and five variables in *A. cisternasii*.

The discriminant function for sex determination, combined with the individual identification using the back pattern as a fingerprint, could be important tools to increase the knowledge of sex ratio, population structure and population dynamics of this endangered species. This

valuable information could be used in the construction of demographical models that would improve the Recovery Plan currently undertaken in Mallorca Island.

| Character | Sex | N | Mean | Min | Max | SD | t | P |
|-----------|--------|----|--------|--------|--------|-------|--------|-------|
| SVL | Male | 25 | 33.741 | 31.060 | 36.440 | 1.803 | 2.763 | 0.007 |
| | Female | 55 | 35.285 | 31.270 | 41.200 | 2.513 | | |
| ED | Male | 25 | 6.818 | 5.820 | 7.950 | 0.588 | -0.189 | 0.850 |
| | Female | 55 | 6.792 | 5.750 | 7.890 | 0.567 | | |
| ND | Male | 25 | 3.475 | 2.930 | 4.360 | 0.371 | 0.622 | 0.536 |
| | Female | 55 | 3.530 | 2.640 | 4.480 | 0.362 | | |
| HW | Male | 25 | 13.208 | 11.760 | 14.580 | 0.875 | 1.196 | 0.235 |
| | Female | 55 | 13.485 | 11.640 | 15.530 | 0.992 | | |
| JL | Male | 25 | 11.848 | 10.240 | 13.630 | 1.023 | -1.763 | 0.082 |
| | Female | 55 | 11.414 | 9.060 | 13.970 | 1.018 | | |
| KUL | Male | 25 | 16.231 | 14.220 | 17.300 | 0.796 | 1.772 | 0.080 |
| | Female | 55 | 16.801 | 14.140 | 23.360 | 1.512 | | |
| TFL | Male | 25 | 15.478 | 13.620 | 16.910 | 0.886 | 1.024 | 0.309 |
| | Female | 55 | 15.724 | 13.710 | 18.200 | 1.039 | | |
| HTD | Male | 25 | 22.495 | 19.950 | 25.070 | 1.314 | 1.042 | 0.301 |
| | Female | 55 | 22.906 | 19.110 | 26.180 | 1.758 | | |
| HL | Male | 25 | 9.682 | 7.340 | 11.450 | 0.986 | 0.718 | 0.475 |
| | Female | 55 | 9.858 | 6.830 | 12.100 | 1.034 | | |
| UL | Male | 25 | 9.958 | 8.590 | 12.070 | 0.795 | 0.978 | 0.331 |
| | Female | 55 | 10.173 | 8.300 | 12.570 | 0.963 | | |
| EFD | Male | 25 | 18.039 | 10.680 | 20.580 | 1.947 | 1.688 | 0.095 |
| | Female | 55 | 18.670 | 16.110 | 21.660 | 1.338 | | |
| HDT | Male | 25 | 3.248 | 2.680 | 3.880 | 0.374 | -5.166 | 0.000 |
| | Female | 55 | 2.860 | 2.170 | 3.510 | 0.279 | | |
| EW | Male | 25 | 4.296 | 3.830 | 4.920 | 0.290 | 4.296 | 0.243 |
| | Female | 55 | 4.200 | 3.480 | 5.020 | 0.355 | | |
| END | Male | 25 | 3.912 | 3.320 | 4.820 | 0.380 | 1.115 | 0.268 |
| | Female | 55 | 4.018 | 3.090 | 4.760 | 0.400 | | |

TABLE 3.2. Statistical parameters and Student t -tests for differences between sexes of all morphological variables under study. See table 1 for abbreviations.

| Character | Wilks' Lambda | Partial Lambda | F-remove (1,65) | p-level | Tolerance |
|-----------|---------------|----------------|-----------------|----------|-----------|
| SVL | 0.357924 | 0.796688 | 16.58780 | 0.000129 | 0.133670 |
| ED | 0.293812 | 0.970533 | 1.97353 | 0.164835 | 0.600442 |
| ND | 0.290941 | 0.980108 | 1.31925 | 0.254935 | 0.670382 |
| HW | 0.367445 | 0.776045 | 18.75806 | 0.000052 | 0.203796 |
| JL | 0.395336 | 0.721294 | 25.11584 | 0.000004 | 0.268837 |
| KUL | 0.287639 | 0.991360 | 0.56647 | 0.454383 | 0.354090 |
| TFL | 0.303241 | 0.940353 | 4.12295 | 0.046401 | 0.179519 |
| HTD | 0.285268 | 0.999600 | 0.02600 | 0.872409 | 0.344958 |
| HL | 0.285547 | 0.998622 | 0.08966 | 0.765566 | 0.547849 |
| UL | 0.306250 | 0.931116 | 4.80874 | 0.031900 | 0.521065 |
| EFD | 0.302786 | 0.941766 | 4.01927 | 0.049152 | 0.397335 |
| HDT | 0.498148 | 0.572427 | 48.55155 | 0.000000 | 0.508885 |
| EW | 0.325568 | 0.875866 | 9.21229 | 0.003455 | 0.553218 |
| END | 0.285581 | 0.998505 | 0.09732 | 0.756065 | 0.633487 |

TABLE 3.3. Summary of the discriminant function analysis.

Acknowledgements

We thank to J. Oliver, J. Mayol, X. Manzano, I. Ramos and V. Forteza from the Balearic Government that helped in the fieldwork. Also we thank to the owners of the properties where we have been allowed to do our studies in, especially to the ones of s'Alqueria d'Andratx. "La Caixa" Foundation granted part of the study under the project "Reproductive Biology of the Mallorcan Midwife Toad". All the captures of toads were authorized by the Balearic Government with specific scientific capture authorizations (28/2005; 47/2006; 19/2007).

References

- CLARKE B.T. (1984): General skeletal morphology. In: Life History of the Mallorcan Midwife Toad, p. 45-60. HEMMER H. & ALCOVER J.A., Eds, Editorial Moll. Palma de Mallorca.
- BOSCH J. & MÁRQUEZ R. (1996): Discriminant functions for sex identification in two midwife toads (*Alytes obstetricans* and *A. cisternasii*). *Herpetol. J.* 6: 106-109.
- BUSH S. (1996): Why is double clutching rare in the Mallorcan midwife toad? *Anim. Behav.* 52: 913-922.
- BUSH S. (1997): Vocal Behaviour of males and females in the Majorcan Midwife Toad. *J. Herpetol.* 31: 251-257.
- BUSH S. & DELL D.J. (1997): Courtship and male competition in the Mallorcan midwife toad, *Alytes muletensis*. *Ethology* 103: 292-303.
- DONNELLY M.A., GUYER C. JUTERBOVK J.E. & ALFORD R.A. (1994): Techniques for Marking Amphibians. In: Measuring and monitoring biological diversity. Standard methods for amphibians, p. 277-284. HAYER W.R., DONNELLY M.A., MCDIARMID R.W., HAYEK L.C. & FOSTER M.D., Eds, Smithsonian Institution Press.
- FORCADA J. & ROBINSON S.L. (2006): Population abundance, structure and turnover estimates for leopard seals during winter dispersal combining tagging and photo-identification data. *Pol. Bio.* 29: 1052-1062.
- IUCN (2008): 2008 IUCN Red List of Threatened Species <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 28 December 2008.

- KRAAIJKEVELD-SMIT F.J., ROWE G., BEEBEE T.J.C. & GRIFFITHS R.A. (2003): Microsatellite markers for the Mallorcan midwife toad *Alytes muletensis*. *Mol. Ecol. Notes* 3: 152-154.
- KRAAIJKEVELD-SMIT F.J., BEEBEE T.J.C., GRIFFITHS R.A., MOORE R.D. & SCHLEY L. (2005): Low gene flow but high genetic diversity in the threatened Mallorcan midwife toad *Alytes muletensis*. *Mol.Ecol.* 14: 3307-3315.
- LEA J., DYSON M. & HALLIDAY T. (2001): Calling by male midwife toads stimulates females to maintain reproductive condition. *Anim.Behav.* 61: 373-377.
- LEA J., HALLIDAY T.R. & DYSON M. (2003): The mating strategy of *Alytes muletensis*: Some males are less ready to mate than females. *Amphibia-Reptilia*, 24: 169-180.
- MAYOL J., ALCOVER J.A., JAUME D., ALOMAR G., JURADO J. & POMAR, G. (1984): Morfología externa dels adults de *Baleaphryne muletensis*. In: Life History of the Mallorcan Midwife Toad, p. 15-20. HEMMER H. & ALCOVER J.A., Eds, Editorial Moll.
- MEYER F. & GROSSE W.R. (1997): Populationökologische Studien an Amphibien mit Hilfe der fotografischen Individualerkennung: Übersicht zur Methodik und Anwendung bei der Kreuzkröte (*Bufo calamita*). *Mertensiella* 7: 79-92.
- MOORE R., GRIFFITHS R. & ROMÁN A. (2004) Distribution of the Mallorcan midwife toad (*Alytes muletensis*) in relation to landscape topography and introduced predators. *Biol. Conserv.* 116: 327-332.
- ROMÁN A. & MAYOL J. (1997): La recuperació del ferreret, *Alytes muletensis*, Documents tècnics de Conservació 1. Conselleria de Medi Ambient, Ordenació del Territori i Litoral.
- SCHLEY L., GRIFFITHS R. & ROMÁN A. (1998): Activity patterns and microhabitat selection of Mallorcan midwife toad (*Alytes muletensis*) tadpoles in natural torrent tools. *Amphibia-Reptilia* 10: 143-151.
- SHINE R. (1979): Sexual selection and sexual dimorphism in the Amphibia. *Copeia* 2: 297-306.
- STEBBINS R.C. & COHEN N.W. (1995): A Natural History of Amphibians. Princeton University Press.

STREICH W.J., BECKMANN H., SCHNEEWEISS N. & JEWGENOW K. (1997): Computergestützte Bildanalyse von Fleckenmustern der Rotbauchunke (*Bombina orientalis*). *Mertensiella* 7: 93-102.

WINKLER C. & HEUNISCH G. (1997): Fotografische Methoden der Individualerkennung bei Bergmolch (*Triturus cristatus*) und Fadenmolch (*T. helveticus*) (Urodela, Salamandridae). *Mertensiella* 7: 71-77.



CAPÍTULO IV
MORFOLOGÍA DE LOS ADULTOS



Optimal habitat of the Majorcan midwife toad.

Abstract

The endemic species from Balearic Islands (Spain), *Alytes muletensis*, lives in the system of karstic canyons of Mallorca, where one of its main predators, the viperine snake, *Natrix maura* cannot easily reach. For the first time, we were able to study a large sample of adult toads of *A. muletensis* from several populations and analyze, by comparing their body sizes and condition, which type of habitat would be optimal for the species; assuming that larger individuals with a better body condition should be located in the most suitable habitats for the species, with a lower predation pressure and a higher food availability. Our results showed that artificial habitats can be clearly optimal for *A. muletensis*. While natural habitats would have other advantages in terms of conservation, that allow us to view them as also suitable for the Balearic Midwife toad.

Key words: *Alytes muletensis*, Balearic Islands, optimal habitat

Introduction

Amphibians are suffering a global decline and are more threatened than other groups of vertebrates, as mammals or birds (BEEBEE & GRIFFITHS, 2005). The introduction of alien species, over-exploitation, land use changes, ultraviolet radiation, global warming, use of pesticides, toxic chemicals pollution and emerging infectious diseases are the main causes that could explain the decline of amphibians worldwide (COLLINS & STORFER, 2003). In several cases, newly discovered species are endangered and survive in what appear to be suboptimal, disturbed, or impoverished habitats (WAKE & VREDENBURG, 2008).

Vertebrate endemic species of the Balearic Islands (Spain), like the Balearic Midwife Toad, *Alytes muletensis* (SANCHIZ & ADROVER, 1977), are currently more abundant in marginal habitats such as coastal islets or mountainous areas (PALMER ET AL., 1999). The present day characteristic habitat of this threatened toad is the system of karstic canyons excavated in limestone rocks at the so-called Serra de Tramuntana, in northern Mallorca Island. It is

located at a moderate altitude and surrounded by steeped slopes, where one of its main predators, the Viperine Snake, *Natrix maura* cannot easily reach (ALCOVER ET AL., 1984). Accordingly, one of the main principles of the current strategy for the conservation of this toad is to allocate conservation efforts to those populations of *A. muletensis* where *N. maura* has difficulties to access and live (SERVEI DE PROTECCIÓ D'ESPÈCIES, 2007; ROMAN & MAYOL, 1997).

An optimal habitat for a given species could be the area which contains the optimal, both biotic and abiotic conditions, so that a species can live and reproduce successfully, above the norm, compared to other areas where the species is found. A complementary definition could be: the area where each and every one of the biotic and abiotic parameters or conditions are within the central values of a given range (SÁNCHEZ-PALOMARES ET AL., 2004). Today, the biotic and abiotic conditions of the habitat of *A. muletensis* are highly variable, compared to those of the few localities where it was discovered. Due to the works of the Recovery Plan launched for this species, several wild populations with new breeding sites were created (ROMÁN & MAYOL, 1995). All are quite different in terms of habitat characteristics and hold populations in a wide range of abundance and conservation status.

It is well known that body size of amphibians is related to age and population density (BERGER, 1973A, B; DENTON & BEEBEE, 1993) and to food availability (DUNHAM, 1978), which is also a key point for body condition. On the other hand, body condition is considered by most authors as an indicator of the relative amount of energy stores, compared with structural components of the body (GREEN, 2001). Both parameters could give a reliable idea of health status of a given toad's population. In addition, body size and condition are directly influenced by several environmental conditions, as predation pressure or food availability (DUNHAM, 1978; BRÖNMARK & MINER, 1992; MADSEN & SHINE, 2002; BLUMESHINE ET AL., 2000). Thus, larger individuals, with a better body condition should be located in the most suitable habitats for the species, with less predation pressure and higher food availability.

For the first time, we were able to study a large sample of adult toads of *A. muletensis* from several populations. Analyzing them and comparing body sizes and condition, we can find which type of habitat is the most suitable for the species. Obviously, a proper knowledge of which habitat is the most suitable is critical to conservation proposes, especially in the design of future conservation actions of this endangered species.

Materials and Methods

Among 38 known localities from the whole distributional range of species, adult toads from six different localities were collected, and then released, during annual surveys from 2005 to 2011 (TABLE 4.1). Several surveys were done in all of these six populations, from May to August, identifying all captured individuals with photo identification techniques (PINYA & PÉREZ-MELLADO, 2009).

We measured the snout-vent length (SVL) with a digital caliper (± 0.01 mm) and weight with a digital balance (± 0.01 g). We sexed the identified individuals by applying a discrimination function, according to PINYA & PÉREZ-MELLADO (2009). In the relation to body condition, we estimated it with a regression of body mass on body size, transforming the data into logarithmic values and using the residuals in comparisons among different localities (JAKOB ET AL., 1996, SCHULTE-HOSTEDDE ET AL., 2001).

| Population | Locality description | Environmental stress value | Year of creation | Founding population | Period of study |
|------------|--|----------------------------|---------------------|---------------------|-----------------|
| XIX.B | Artificial. Open reservoir. Formerly used to provide water for cattle. 10 m apart from a torrent | 1 | 1997 | 8.B | 2006-2007 |
| XVI | Artificial. Closed reservoir. Used in the past to provide water for cattle and humans | 2 | 1994 | 8.B | 2008-2010 |
| I.A.2 | Artificial. Closed reservoir. Used in the past to provide water for cattle and humans | 1 | Unknown Before 1991 | Unknown | 2009-2010 |
| 8.B | Natural. Stream | 5 | Natural | Natural | 2008-2009 |
| 15.A | Natural. Stream | 4 | 1992 | 8.B | 2008-2010 |
| VIII.B | Natural. Pool | 2 | 1997 | 8.B | 2008-2010 |

TABLE 4.1. Selected populations of the Balearic Midwife Toad (*A. muletensis*) under study, with a brief description, their environmental stress value, the year of creation, the location of the founding population and the period of study (see text for more details)

According to ROMÁN & MAYOL (2007), the main threatening factors for adult's toads are the presence of *Natrix maura*, water avenues, rock stoning, and the presence of other occasional predators as the pine marten, *Martes martes*. In addition, we also took into account the existence of high vertical walls, higher than three meters, which can be a clear stressing factor for toads, because adults must frequently climb and descend those walls during the breeding

season. In order to quantify the environmental stress at the localities under study, we calculated a rough environmental stress level, assigning a value of 1 to each factor above mentioned, when it is present at each single locality. Adding the scores of all factors, for a given locality, we obtained an overall value of their environmental stress levels, ranging from 0 to 5 (TABLE 4.1)

Differences in body size among habitats and localities were compared with a two-way ANOVA test, while differences in body condition were analyzed with ANCOVA tests employing body size (SVL) as covariate. All statistical analyses were performed with the package Statistica 6.0, StatSoft.

Results

We captured 553 adults during the study period and measured SVL in all of them, and weighted in the case of 467 individuals (TABLE 3.2).

Both, females and males from artificial localities were significantly larger than those from natural sites (females: $F_{1, 191} = 25.75; P < 0.001$, males: $F_{1, 362} = 90.04; P < 0.001$) (see FIGURE 4.1). In addition, both females ($F_{5, 191}, P < 0.001$) and males ($F_{5, 362}, P < 0.001$) showed significant differences among localities (FIGURE 4.2). Females from locality XVI, were significantly larger than females from the rest of localities, with the exception of VIII.B, with closer values (FIGURE 4.2, TABLE 4.3). Males from XVI and XIX.B localities were similar in body size and significantly larger than those from remaining localities with the exception of I.A.2, which males were marginally smaller than those of locality XIX.B (FIGURE 4.2, TABLE 4.3).

| Population | ♂♂ | SVL ♂♂ | ♀♀ | SVL ♀♀ | ♂♂ | Weight ♂♂ | ♀♀ | Weight ♀♀ |
|--------------|------------|--------------|------------|--------------|------------|-------------|------------|-------------|
| XIX.B | 36 | 34.73 ± 2.01 | 33 | 34.66 ± 2.32 | 32 | 0.11 ± 0.02 | 29 | 0.11 ± 0.02 |
| XVI | 69 | 36.71 ± 2.59 | 64 | 38.55 ± 2.85 | 63 | 0.11 ± 0.02 | 63 | 0.12 ± 0.02 |
| I.A.2 | 23 | 33.38 ± 1.60 | 13 | 35.40 ± 2.18 | 14 | 0.08 ± 0.01 | 12 | 0.08 ± 0.01 |
| 8.B | 44 | 33.15 ± 2.23 | 21 | 34.66 ± 2.60 | 32 | 0.08 ± 0.01 | 17 | 0.08 ± 0.01 |
| 15.A | 161 | 33.24 ± 1.90 | 47 | 34.65 ± 2.46 | 134 | 0.08 ± 0.01 | 34 | 0.08 ± 0.02 |
| VIII.B | 29 | 33.21 ± 2.08 | 13 | 35.82 ± 1.79 | 26 | 0.08 ± 0.01 | 11 | 0.09 ± 0.01 |
| Total | 362 | | 191 | | 301 | | 166 | |

TABLE 4.2. Average body size ± SE (SVL, in mm, from snout to urostyle) and average weight (in g) from males and females of *A. muletensis* at each locality

On the other hand, both females and males from artificial habitats were significantly heavier than those from natural sites (females: $F_{1, 166} = 72.56; P < 0.001$, males: $F_{1, 301} = 89.81; P < 0.001$, see FIGURE 4.3). In addition, females ($F_{5, 166} = 30.54; P < 0.001$) and males ($F_{5, 301} = 36.66; P < 0.001$) showed significant differences in body condition among localities (FIGURE 4.4).

Females from locality XIX.B are significantly heavier than females from locality XVI, and both were significantly heavier than ones from the group formed by localities IA2, 8.B, 15A and VIII.B (FIGURE 4.4, TABLE 4.3). Males from locality XVI and XIX.B were similar and significantly heavier than the ones from the group of localities IA2, 8.B, 15A and VIII.B (FIGURE 4.4, TABLE 4.3).

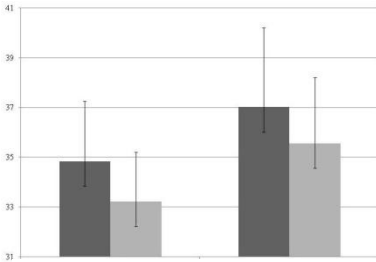


FIGURE 4.1. Average body size (SVL±SE) of females (black) and males (grey) from artificial and natural habitat localities

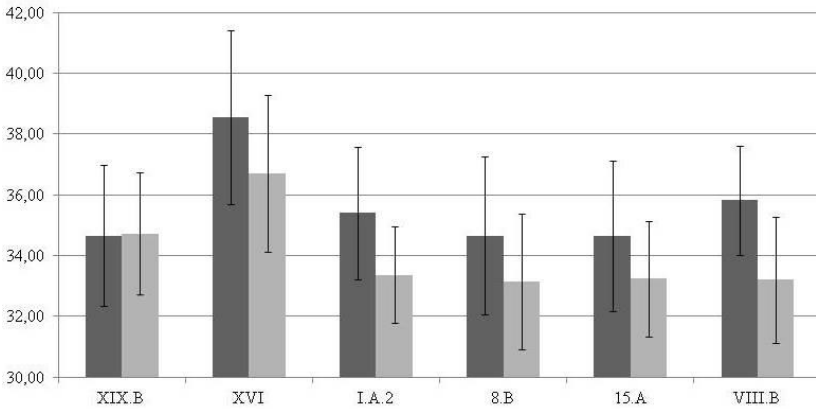


FIGURE 4.2. Average body sizes (SVL) of females (black) and males (grey) from all localities under study.

| | Sex | XIV | IA.1 | 8.B | 15.A | VIII.B |
|-------|-----|-------|-------|-------|-------|--------|
| XIX.B | ♂ | 0.002 | 0.238 | 0.013 | 0.026 | 0.054 |
| | ♀ | 0.001 | 0.972 | 1.000 | 1.000 | 0.830 |
| XIV | ♂ | | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 |
| | ♀ | | 0.030 | 0.001 | 0.001 | 0.101 |
| IA.1 | ♂ | | | 0.998 | 0.999 | 0.996 |
| | ♀ | | | 0.968 | 0.967 | 0.998 |
| 8.B | ♂ | | | | 0.999 | 1.000 |
| | ♀ | | | | 1.000 | 0.819 |
| 15.A | ♂ | | | | | 1.000 |
| | ♀ | | | | | 0.815 |

TABLE 4.3 Results (p-values) of *post hoc* tests of ANOVAs of body size (SVL).

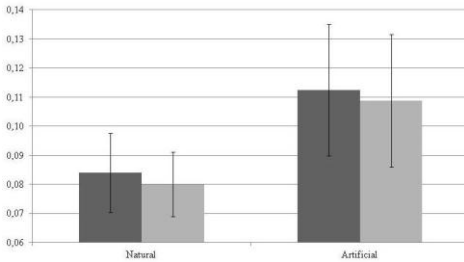


FIGURE. 4.3. Average of weight residuals of females (black), and males (grey), from all localities (see text for more details)

| | Sex | XIV | IA.1 | 8.B | 15.A | VIII.B |
|-------|-----|-------|-------|-------|-------|--------|
| XIX.B | ♂ | 0.002 | 0.238 | 0.013 | 0.026 | 0.054 |
| | ♀ | 0.001 | 0.972 | 1.000 | 1.000 | 0.830 |
| XIV | ♂ | | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 |
| | ♀ | | 0.030 | 0.001 | 0.001 | 0.101 |
| IA.1 | ♂ | | | 0.998 | 0.999 | 0.996 |
| | ♀ | | | 0.968 | 0.967 | 0.998 |
| 8.B | ♂ | | | | 0.999 | 1.000 |
| | ♀ | | | | 1.000 | 0.819 |
| 15.A | ♂ | | | | | 1.000 |
| | ♀ | | | | | 0.815 |

TABLE 4.3. Results (p-values) of *post hoc* tests of ANOVAs of body size (SVL)

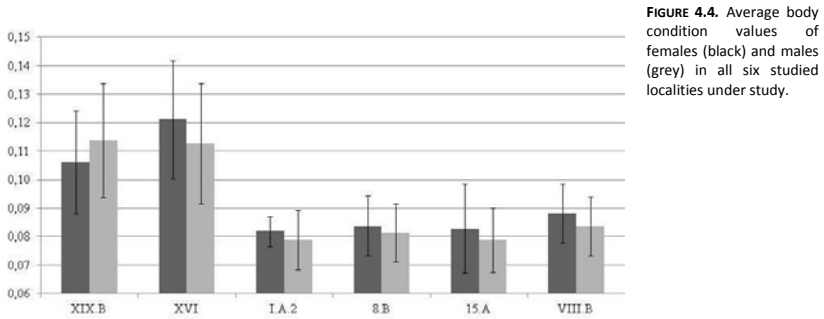
| | Sex | XIV | IA.1 | 8.B | 15.A | VIII.B |
|-------|-----|-------|-------|-------|-------|--------|
| XIX.B | ♂ | 0.847 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 |
| | ♀ | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.032 |
| XIV | ♂ | | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 |
| | ♀ | | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 |
| IA.1 | ♂ | | | 0.996 | 1.000 | 0.927 |
| | ♀ | | | 1.000 | 0.997 | 0.587 |
| 8.B | ♂ | | | | 0.831 | 0.990 |
| | ♀ | | | | 0.992 | 0.608 |
| 15.A | ♂ | | | | | 0.522 |
| | ♀ | | | | | 0.309 |

Table 4.4. Results (p-values) of *post hoc* tests for ANCOVAs on body condition

Discussion

Our data show that specimens of *A. mulentesis* from artificial habitats are larger and have a better body condition than those from natural habitats. Adults of *A. mulentesis* are facing several threats or stressing factors as water avenues, the presence of predators, or the existence of steeped slopes (ROMÁN & MAYOL, 1997). For adult toads, artificial habitats have advantages over natural ones, because they would have less stressful factors than in natural

habitats. This fact would promote increased probabilities of survival and, combined with a supposedly higher food availability and lower energy costs, would favor the presence of larger toads with better body condition, compared with those from natural habitats.



Moreover, four of the studied populations (XIX.B, XVI, 15.A and VIII.B) were created from individuals coming from the same natural population (8B, TABLE 4.1), from 9 to 16 years ago. Comparing the body size among the original population and newly created populations, differences are clear. Individuals from artificial localities are again larger in relation to their source population, while individuals from natural populations have closer values compared with those of their original population (8B). In addition, our data suggest that individuals introduced in artificial habitats suffered a change in body size, in a period of 9 to 16 years (TABLE 4.1). This change, in such a short period, can be considered a fast morphological change, as it had been documented in other species (HUEY ET AL., 2000; SASAKI ET AL., 2008).

Variations in life history parameters among populations of the same species are often explained by differences in habitat quality or climate (HASTINGS, 1997). Body size is also influenced and varies according to environmental factors (GUTHRIE, 2003; MOORE ET AL., 2004). Moreover, in amphibians age at maturity, longevity, potential reproductive life span and age-size relationship consistently vary in response to environmental factors among populations (MORRISON & HERO, 2003; SINSCH ET AL., 2007). Differences and similarities in body size of *A. muletensis* from introduced populations, in relation to their source population, may be due to differences in habitat characteristics, which modulate and can exert a selective pressure on these parameters. Hence, the fast morphological change of *A. muletensis* from natural to

artificial habitats may respond to better conditions for the individuals. Consequently, toads can invest on growing and weight, instead of dealing with threats of natural habitats.

The "optimal" habitat of an insular and endangered species, from the viewpoint of its conservation, is the habitat where predators have a difficult access or have unsuitable conditions to live (ALCOVER ET AL. 1984; LÓPEZ-JURADO ET AL., 1999). We should remember that, in the majority of cases, these predators were introduced by humans. Thus, the optimality of a given habitat would be clearly different in a predator-free situation, prior to human arrival to islands.

Predators or competitors may affect the behaviour of the prey, forced to feed or breed in suboptimal habitats (MOORE, 2004; ACEVEDO ET AL., 2007; PÉREZ-TRIS ET AL., 2004). In this way, they can affect the size and body condition of prey (MCDONALD ET AL., 1992; MOORE ET AL, 2004). The introduction of *Natrix maura* during Roman times was determinant for the current distribution and status of *Alytes muletensis* (GUIKING ET AL., 2006). This colubrine snake caused the extinction of most of the populations, with the exception of those located in deep karstic canyons (MOORE ET AL., 2004). A similar case happen at Canary Islands, with the introduction of feral cats and other mammals, which affected the current distribution of the insular endemic lizards *Gallotia simonyi* and *G. gomerae*, restraining them to suboptimal habitats in almost inaccessible cliffs (MATEO, 2007; PÉREZ-MELLADO ET AL., 1999).

Larger individuals with better body condition, together with a very fast morphological change were observed in artificial habitats, revealing that *A. muletensis* would live better in those allegedly atypical habitats.

Artificial habitats of *A. muletensis* are clearly the most suitable and even the optimal habitat for the view of the individual, as show the body size and condition values. Nevertheless, in a wider perspective of the population, artificial habitats normally maintain smaller population stocks. Thus, in the case of arrival of a foreign predator, the risk of collapse could be high. That is, the suitability of these artificial habitats is not complete. On the other hand, natural habitats have smaller individuals with a poorer body condition, but normally with larger population stocks, allowing to face predation pressure with higher survival probabilities. Consequently, a balance between optimal conditions for individuals and populations should

be taken into account in the future conservation actions, like the selection of new localities for the creation of new breeding sites.

Acknowledgments

To M^a Antònia Vanrell and Joan Antoni Oliver, from the Balearic Environmental Agency, for their general support over the study. To Xavier Manzano, Jaume Bonnin, Juan José Suárez, Iván Ramos, Sebastian Trenado, Rosa Alberí, Lluís Albertí and others who supported us during fieldwork.

References

- ACEVEDO P., J. CASSINELLO & C. GORTAZAR. 2007. The Iberian ibex is under an expansion trend but displaced to suboptimal habitats by the presence of extensive goat livestock in central Spain. *Biodiversity and Conservation* 16:3361-3376
- ALCOVER J.A. & J. MAYOL. 1981. Espècies reliques d'amfibis i de rèptils a les Balears i Pitiüses. *Bolletí de la Societat Història Natural de les Illes Balears* 25:151-167
- ALCOVER J.A., J. MAYOL, D. JAUME, G. ALOMAR, & J. JURADO. 1984. Biologia i ecologia de les poblacions relictas de *Baleaphryne muletensis* a la muntanya mallorquina. Pp. 129-152 in HEMMER, H., AND J.A. ALCOVER (eds) *Història Biològica del Ferreret*. Monografies científiques 3. Editorial Moll, Palma de Mallorca. Spain
- BEEBEE T.J.C., & R.A. GRIFFITHS. 2005. The amphibian decline crisis: A watershed for conservation biology? *Biological Conservation* 125:271-285
- BERGER L. 1973a. Sexual maturity of males within forms of *Rana esculenta* complex. *Zoologica Poloniae* 22:177-188
- BERGER L. 1973b. Systematics and hybridization in European green frogs of *Rana esculenta* complex. *Journal of Herpetology* 7:1-10
- BLUMESHINE S.C., D.M. LODGE & J.R. HODGSON. 2000. Gradient of fish predations alters body size distributions of lake benthos. *Ecology (USA)* 82(2):374-386

- BRÖNMARK C., & J.G. MINER. 1992. Predator-Induced Phenotypical Change in Body Morphology in Crucian Carp. *Science* 258:1348-1350
- DENTON J.S., & T.J.C. BEEBEE. 1993. Density-related features of natterjack toad (*Bufo calamita*) populations in Britain. *Journal of Zoology* 229:105-119
- COLLINS J.P. & A. STORFER. 2003. Global amphibian declines: sorting the hypotheses. *Diversity and Distributions* 9:89-98
- DUNHAM A.E. 1978. Food availability as a proximate factor in influencing individual growth rates in the iguanid lizard *Sceloporus merriami*. *Ecology (USA)* 59:770-778
- GREEN A. 2001. Mass/length residuals: measures of body condition or generators of spurious results? *Ecology (USA)* 82(5):1473-1483
- GUICKING D., R.A. GRIFFITHS, R. MOORE, U. JOGER & M. WINK. 2006. Introduced alien or persecuted native? Resolving the origin of the viperine snake (*Natrix maura*) on Mallorca. *Biodiversity and Conservation* 15:3045-3054
- GUTHRIE R.D. 2003. Rapid body size decline in Alaskan Pleistocene horses before extinction. *Nature* 426:169-171
- HASTINGS A. 1997. Population Biology: concepts and models. Springer-Verlag. Berlin. Germany
- HUEY R.B., G.W. GILCHRIST, M.L. CARLSON, D. BERRIGAN & L. SERRA (2000) Rapid evolution of a geographic cline in size in an introduced fly. *Science* 287:308-309
- JAKOB E.M., S.D. MARSHALL & G.W. UETZ. 1996. Estimating fitness: a comparison of body condition indices. *Oikos* 77:61-67
- LÓPEZ-JURADO L.F., M. GARCÍA-MÁRQUEZ & J.A. MATEO. 1999. Descripción de la distribución primitiva del lagarto gigante de El Hierro y de su regresión histórica. Pp. 7-16 in LÓPEZ-JURADO, L.F., AND J.A. MATEO (eds) El lagarto gigante del Hierro. Bases para su conservación. Monografías de Herpetología, 4. Asociación Herpetológica Española and Gobierno de Canarias. Spain
- MADSEN T. & R. SHINE (2002) Short and chubby or long and slim? Food intake, growth and body condition in free-ranging pythons. *Austral Ecology* 27:672-680

- MATEO J.A. (2007) El Lagarto Gigante de la Gomera. Ed. Cabildo de La Gomera. Spain
- MCDONALD M.E., A.E. HERSHEY & W.J. O'BRIEN. 1992. Cost of predation avoidance in young-of-year lake trout (*Salvelinus namaycush*): growth differential in sub-optimal habitats. *Hydrobiologia* 240(1-3):213-218
- MOORE R.D., R.A. GRIFFITHS & A. ROMÁN. 2004. Distribution of the Mallorcan midwife toad (*Alytes muletensis*) in relation to landscape topography and introduced predators. *Biological Conservation* 116:327-332
- MORRISON C. & J.M. HERO. 2003. Geographic variation in life-history characteristics of amphibians: a review. *Journal of Animal Ecology* 72:270-279
- PALMER M., G.X. PONS, I. CAMBEFORT & J.A. ALCOVER. 1999. Historical processes and environmental factors as determinants of inter-island differences in endemic faunas: the case of the Balearic Islands. *Journal of Biogeography* 26:813-823
- PÉREZ-MELLADO V., M. ROMERO-BEVIÁ, A. DE LA TORRE, M. VICEDO & J. GARCÍA-SIRVENT. 1999. Hábitat, distribución actual y tamaño de la población de *Gallotia simonyi* en la isla de El Hierro (Islas Canarias). Pp. 27-42 in: LÓPEZ-JURADO, L.F., AND J.A. MATEO (eds) El Lagarto gigante de El Hierro. Bases para su conservación. Monografías de Herpetología, 4: Asociación Herpetológica Española. Spain
- PÉREZ-TRIS J, J.A. D & J.L. T . 2004. Loss of body mass under predation risk: cost of antipredatory behaviour or adaptive fit-for-escape? *Animal Behaviour* 67(3):511-521
- PINYA S. & V. PÉREZ-MELLADO. 2009. Individual identification and sexual dimorphism in the endangered Balearic Midwife Toad. *Alytes muletensis* (Sanchíz and Adrover. 1981). *Amphibia-Reptilia* 30:439-443
- ROMÁN A. (2002) *Alytes muletensis* (Sanchíz and Adrover. 1977). Pp. 79-81 in PLEGUEZUELOS, J.M., R. MARQUEZ, AND M. LIZANA (eds) Atlas y Libro Rojo de los Anfibios y Reptiles de España. Dirección General de Conservación de la Naturaleza and Asociación Herpetológica Española (2ª impresión). Madrid. Spain
- ROMÁN A., & J. MAYOL. 1995. A Natural Reserve for the "Ferreret" (*Alytes muletensis*) (Sanchíz and Adrover. 1977) (Anura: Discoglossidae). Pp 354-356 in LLORENTE, G., A. MONTORI, X.

- SANTOS, AND M.A. CARRETERO (eds) Scientia Herpetologica. Asociación Herpetológica Española and Societas Europaea Herpetológica. Spain
- ROMÁN A. & J. MAYOL. 1997. La recuperación del ferreret, *Alytes muletensis*. Documents tècnics de Conservació 1. Conselleria de Medi Ambient, Ordenació del Territori i Litoral. Palma de Mallorca. Spain
- SÁNCHEZ-PALOMARES O., A. RUBIO & A. BLANCO. 2004. Definición y cartografía de las áreas potenciales fisiográfico-climáticas de hayedo en España. Investigación agraria. *Sistemas y recursos forestales* FS: 13-62
- SASAKI K., S.F. FOX & D. DUVALL. 2008. Rapid evolution in the wild: Changes in body size, life-history traits, and behavior in hunted populations of the Japanese Mamushi Snake. *Conservation Biology* 23(1):93-102
- SCHULTE-HOSTEDDE A.I., J.S. MILLAR & G.J. HICKLING. 2001. Evaluating body condition in small mammals. *Canadian Journal of Zoology* 79:1021-1029
- SERVEI DE PROTECCIÓ D'ESPÈCIES. 2007. Pla de recuperació del ferreret (*Alytes muletensis*). Plans d'espècies catalogades, 2. Ed. Conselleria de Medi Ambient del Govern de les Illes Balears. Spain
- SINSCH U., C. LESKOVAR, A. DROBIG, A. KÖNIGB & W.R. GROSSE. 2007. Life-history traits in green toad (*Bufo viridis*) populations: indicators of habitat quality. *Canadian Journal of Zoology* 85: 665-673
- WAKE D.B. & V.T. VREDENBURG. 2008. Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 105(1):11466-11473

PINYA S., SUÁREZ-FERNÁNDEZ J.J. & PÉREZ MELLADO V. (2012). First Records of Limb Malformations in Wild Populations of the Endangered Balearic Midwife Toad, *Alytes muletensis*. *Herpetological Review* 43(2): 240–243.



Introduction.

Limb deformities and developmental abnormalities in natural populations of amphibians have been reported for decades (BISHOP, 1947; REYNOLDS & STEPHENS, 1984; SESSIONS & RUTH, 1990; WOITKEWITCH, 1961) but few reports involve deformities in rare and endangered amphibians.

The Balearic Midwife Toad *Alytes muletensis* (SANCHÍZ & ADROVER, 1977) is an endemic and threatened species of the Northeast Mallorca (Balearic Islands, Spain). Naturally, *A. muletensis* inhabits streams with vertical side walls and a bed with a stepped profile (ALCOVER ET AL., 1984).

Thanks to conservation efforts, numerous anthropogenic constructions, such as fountains, and open and covered troughs, employed to provide water to livestock, have also been used as habitat for toads. These sites provide *A. muletensis* with new breeding locations, and may act as population reservoirs in the case of threats to natural populations (ROMÁN & MAYOL, 1995).

Larval *A. muletensis* are found in permanent pools, while adults spend the day inside cracks and limestone crevices, emerging at dusk to search for food (ALCOVER ET AL., 1984). Like other species of the genus, males carry egg masses between their hind limbs until just prior to hatching, when they are laid in water.

Since its discovery as a living fossil (MAYOL & ALCOVER, 1981), *A. muletensis* has been the focus of a number of studies and conservation efforts (ROMÁN & MAYOL, 1997 and references therein). While the early detection and identification of the proximate causes of malformations is an important issue in managing an endangered species, no malformations have previously been reported for *A. muletensis*.

Material and Methods

During 2005–2011, *A. muletensis* populations at six localities were monitored to determine the structure and dynamics of the adult fraction of their populations. Adults were captured, sexed, measured and a photograph of their dorsal surface was taken to identify individuals in future captures, following the methodology of PINYA & PÉREZ-MELLADO (2009). Only one of these localities, site 15.A, had individuals with any kind of malformations. This locality is a small karstic canyon naturally excavated from limestone rocks (FIGURE 4.5; 39.90°N, 03.01°E).

The breeding pool has an approximate surface of 50 m² and a variable depth depending on the season (0.4–0.9 m). Vegetation around the locality is a stepped-grassland of *Ampelodesmos mauritanica* (Poaceae) spotted with *Chamaerops humilis* (Arecaceae) and *Rhamnus alaternus* (Rhamnaceae). The local population of *A. muletensis* was established in 1995, during the first recovery program for the species (ROMÁN & MAYOL, 1997).

In 2005 the occurrence of the pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* was confirmed molecularly (ANNIS ET AL., 2004) in Mallorca from *A. muletensis* tadpole mouth-part samples (OLIVER ET AL., 2008A; WALKER ET AL., 2008). The study population tested positive for *B. dendrobatidis* in 2006 with 19.05% of the samples positive, but *B. dendrobatidis* was not detected in 2007–2010 (J. BOSCH, UNPUBL. DATA).

Results and discussion

During 19 sampling occasions from 2006 to 2011 at locality 15A, all during the peak activity period for the species (June–September), a total of 306 individuals (259 adults and 47

juveniles) were captured. All individuals were identified according to dorsal pattern and their age was determined using capture-recapture data. Four individuals had one or more malformations, with a total of five different types: polymelia, micromelia, brachydactyly, syndactyly, and bone projection (FIGURE 4.6). The overall malformation rate was 1.31%, but was higher when each sampling occasion was treated separately. One malformed individual was captured on 9 August 2007 in a sample of 22 adults and 11 juveniles (malformation rate: 3.03%), and three were captured on 24 August 2011 from a sample of 48 adults and 7 juveniles (malformation rate: 5.45%) (TABLE 4.5).



FIGURE 4.5. Locality 15.A, habitat of the monitored population of *Alytes muletensis*.

| Individual | Stage | Sex | Size (mm) | Malformation Type |
|------------|--------------------------|---------|-----------|---|
| Cv-20 | Subadult (metamorphosed) | Unknown | 21.0 | Bone projection |
| Cv-235 | Adult (5 years) | Male | 37.7 | Syndactyly |
| Cv-239 | Adult (2 years) | Female | 32.6 | Polymelia |
| Cv-240 | Subadult (metamorphosed) | Unknown | 24.7 | Micromelia, brachydactyly and bone projection |

TABLE 4.5. Details of the malformed individuals and type of the observed malformation.

Despite there have been no previous reports of malformations in *A. muletensis*, our observations do not reveal any obvious cause. Because, *A. muletensis* is endangered, it was not possible to sacrifice living toads to check for the presence of trematode metacercarial cysts (for example of the genus *Ribeiroia*), the most commonly reported cause of this kind of limb abnormalities (JOHNSON & PAULL, 2011). However, this parasite has not been reported in natural populations of *A. muletensis*, as previous studies have analyzed parasites only from fecal samples (ROCA ET AL., 1998, 2004). Thus, *Ribeiroia* sp. may occur at the study sites.



FIGURE 4.6. Malformed individuals of *Alytes muletensis*: (Cv-239) Supernumerary hind limb (polymelia); (Cv-20) Small bone projection in left hind limb; (Cv-240) micromelia, brachydactyly and small bone projection in left hind limb; (Cv-235) syndactyly in third and fourth digits of the right forelimb.

Although *B. dendrobatidis* is not known to be a direct cause of malformations in adult amphibians (ALTIG, 2007; FELLERS ET AL., 2007; VREDENBURG & SUMMERS, 2001), *B. dendrobatidis* may act synergistically with pathogens of the genus *Ribeiroia* to cause malformations (ROMANSIC ET AL., 2011). In addition, possible immune system depression of tadpoles caused by environmental factors such as pollution, UV radiation or even the presence of *B. dendrobatidis* (PARRIS & TOMMIE, 2004), could drive an increased susceptibility to parasites as *Ribeiroia ondatrae* and, consequently, increase malformations (JOHNSON ET AL., 1999, 2002).

It is possible that the abnormalities observed arose from mutation, developmental errors or traumatic events but these most often involve only missing digits or limb parts (BLAUSTEIN & JOHNSON, 2003). The discovery of a concentration of gross abnormalities, with extra limb parts, raises the question of proximate causes and if these malformations are due to factors that could be considered a threat to this sensitive species.

Acknowledgments

We thank Jaime Bosch, from the National Museum of Natural Sciences, for his contributions to improve the manuscript and to Ivan Ramos for help in the fieldwork. We also thank the owners of the property at the study locality for allowing access for monitoring. Joan Antoni Oliver Valls and M^{re} Antònia Vanrell Cerdà, from the Balearic Environmental Agency, provided support and permission to do our studies in the Natural Area of the Tramuntana Mountain Range. Two reviewers and the associate editor greatly improved the text with their suggestions. No animals were sacrificed or injured during this study, and all captured animals were released immediately after data collection and photography.

References

- ALCOVER J.A., J. MAYOL, D. JAUME, G. ALOMAR, G. POMAR & J. JURADO. 1984. Biología i ecologia de les poblacions relictas de *Baleaphryne muletensis* a la muntanya mallorquina. In: HEMMER, H. AND J.A. ALCOVER (Ed.). Life History of the Mallorcan Midwife Toad. 129-152. Editorial Moll.
- ALTIG R. 2007. Comments on the descriptions and evaluations of tadpole mouthpart anomalies. *Herp. Conserv. Biol.* 2(1):1-4.

- ANNIS S.L., F.P. DASTOOR, H. ZIEL, P. DASZAK & J.E. LONGCORE. 2004. A DNI-based assay identifies *Batrachochytrium dendrobatidis* in amphibians. *J. Wild.Dis.* 40(3):420–428.
- BLAUSTEIN A. & P.T.J. JOHNSON. 2003. The complexity of deformed amphibians. *Front. Ecol. Environ.* 1(2):87–94.
- BISHOP D. W. 1947. Polydactyly in the tiger salamander. *J. Hered.* 38:290–293.
- FELLERS G.M., D.F. BRADFORD, D. PRATT & L.L. WOOD. 2007. Demise of repatriated populations of mountain yellow-legged frogs (*Rana muscosa*) in the Sierra Nevada of California. *Herp. Conserv. Biol.* 2(1):5–21.
- I.U.C.N. 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 10 September 2011.
- JOHNSON P.T.J., K.B. LUNDE, E.G. RITCHIE & A.E. LAUNER. 1999. The effect of trematode infection on amphibian limb development and survivorship. *Science* 284:802–804.
- JOHNSON P.T.J., K.B. LUNDE, E.M. THURMAN, E.G. RIRCHIE, S.N. WRAY, D.R. SUTHERLAND, J.M. KAPFRE, T.J. FREST, J. BOWERMAN & A.R. BLAUSTEIN. 2002. Parasite (*Ribeiroia ondatrae*) infection linked to amphibian malformations in the Western United States. *Ecol. Mon.* 72:151–168.
- JOHNSON P.T.J. & S.H. PAULL. 2011. The ecology and emergence of diseases in fresh waters. *Freshwater Biol.* 56:638–657.
- MAYOL J. & J.A. ALCOVER. 1981. Survival of *Baleaphryne* Sanchiz and Adrover (Amphibia: Anura: Discoglossidae) on Mallorca. *Amph. Rept.* 1(3):343–345.
- OLIVER J.A., X. MANZANO, S. PIÑA, J. BOSCH, S. WALKER, M. FISHER & R. ABADIE. 2008. Presencia de *Batrachochytrium dendrobatidis* en poblaciones silvestres de ferreret (*Alytes muletensis*) y sus implicaciones en la gestión de la especie. In MAYOL J. & VIADA, C. (Ed.) Actas de El Rumbo del Arca. Congreso Técnico de Conservación de Fauna y Flora Silvestres, pp: 145–150. Conselleria de Medi Ambient del Govern de les Illes Balears.
- PARRIS M.J. & O. C. TOMMIE. 2004. Fungal pathogen causes competitive and developmental stress in larval amphibian communities. *Ecology* 85:3385–3395.

- PINYA S. & V. PÉREZ-MELLADO. 2009. Individual identification and sexual dimorphism in the endangered Balearic Midwife Toad, *Alytes muletensis* (SANCHÍZ AND ADROVER, 1981). *Amphibia-Reptilia* 30:439–443.
- REYNOLDS T.D. & T.D. STEPHENS. 1984. Multiple ectopic limbs in a wild population of *Hyla regilla*. *Great Basin Nat.* 44:166–169.
- ROCA V., M.A. GALDÓN, J.E. MARTÍN, G. GARCÍA & J. LÓPEZ. 2004. Primeros datos acerca de la parasitación de la población natural del sapillo balear, *Alytes muletensis* (SANCHÍZ AND ADROVER, 1977) (Anura: Discoglossidae). *Bol. As. Herp. Esp.* 15:44–49.
- ROCA V., G. GARCÍA, E. CARBONELL, C. SÁNCHEZ-ACEDO & E. DEL CACHO. 1998. Parasites and conservation of *Alytes muletensis* (SANCHÍZ AND ADROVER, 1977) (Anura: Discoglossidae). *Rev. Esp. Herp.* 12:91–95.
- ROMÁN A. & J. MAYOL. 1995. A Natural Reserve for the “Ferreret” (*Alytes muletensis*) (SANCHÍZ AND ADROVER, 1977) (Anura: Discoglossidae). In: LLORENTE, G., MONTORI, A., SANTOS, X. AND CARRETER, M.A. (Eds.). *Scientia Herpetologica*, 354–356. Asociación Herpetológica Española and Societas Europaea Herpetológica.
- ROMÁN A. & J. MAYOL. 1997. La Recuperación del Ferreret, *Alytes muletensis*, Documents tècnics de Conservació 1. Conselleria de Medi Ambient, Ordenació del Territori i Litoral. Palma de Mallorca. 80 pp.
- ROMANSIC J.M., P.T.J. JOHNSON, C.L. SEARLE, J.E. JOHNSON, T.S. TUNSTALL, B.A. HAN, J.R. ROHR & A.R. BLAUSTEIN. 2011. Individual and combined effects of multiple pathogens on Pacific treefrogs. *Oecol.* 166:1029–1041.
- SANCHIZ F. B. & R. ADROVER. 1977. Anfibios fósiles del Pleistoceno de Mallorca. *Doñana Acta Vertebrata* 4:5–25.
- SESSIONS S. K. & S.B. RUTH. 1990. Explanation for naturally occurring supernumerary limbs in amphibians. *J. Exp. Zool.* 2.54:38–47.
- VREDENBURG V.T. & A.P. SUMMERS. 2001. Field Identification of Chytridiomycosis in *Rana muscosa* (Camp 1915). *Herp. Rev.* 32(3):151–152.

WALKER S.F., J. BOSCH, T.Y. JAMES, A.P. LITVINTSEVA, J.A. OLIVER-VALLS, S. PIÑA, G. GARCÍA, G.A. ROSA, A.A. CUNNINGHAM, S. HOLE, R. GRIFFITHS & M.C. FISHER. 2008. Invasive pathogens threaten species recovery programs. *Cur. Bio.* 18:853–854.

WOITKEWITCH A.A. 1961. Le développement des extrémités surnuméraires chez les amphibiens. *Bul. Biol. Fr. Et Belg.* 95:569–600.



**CAPÍTULO V:
PARÁMETROS DEMOGRÁFICOS DE
LAS POBLACIONES DE FERRERET**

PINYA S. & PÉREZ MELLADO, V. (2013). Ageing and growth of the endangered midwife toad *Alytes muletensis*. *Endangered Species Research*, 22: 263-268



Abstract

A better understanding of the demography of endangered amphibians is important for the development of suitable management and recovery plans, and for building population viability models. Our work presents, for the first time, growth curves and measurements of mean longevity, growth rates and age at maturity for the Vulnerable midwife toad *Alytes muletensis*. Von Bertalanffy growth models were used to estimate longevity and growth rate parameters. Females had a mean (\pm SD) longevity of 4.70 ± 0.19 yr, significantly higher than that of males (3.24 ± 0.10 yr). The maximum estimated longevity was 18 yr for both males and females. The age distribution indicated that males reached sexual maturity at the age of one yr, and most females at two yr. There were significant differences in growth rate between sexes, with higher values in females during the first four yr of life, and similar values in both sexes thereafter. These life-history traits were compared with equivalent measures in the closely related amphibian genera *Bombina* and *Discoglossus*.

Key words: *Alytes muletensis*, Longevity, Growth rate, Age structure, Balearic Islands

Introduction

Researchers and wildlife managers require basic biological information about wildlife populations to understand and monitor their changes over time (CHEONG ET AL. 2007). The ability to accurately estimate the ages of animals is also essential for the acquisition of information about the demographic characteristics of a population, including mortality, longevity and other variables (HALLIDAY & VERRELL 1988).

The Mallorcan midwife toad *Alytes muletensis* is an endemic and endangered species of northwest Mallorca (Balearic Islands, Spain) (IUCN 2013). Its current distribution range is limited to a small area of the Tramuntana mountain range (ROMÁN 2002), where it inhabits streams with vertical side walls and beds with a stepped profile (ALCOVER ET AL. 1984). No information about the age structure and growth of this species has been published. Skeletochronology is a reliable and very useful technique to estimate the age of amphibians and reptiles (CASTANET & SMIRINA 1990, CASTANET 2002), but this method is invasive and not appropriate for endangered species with small population sizes, such as *A. muletensis* (ARNOLD 2003). The estimation of age by the analysis of size class distribution (e.g. snout-vent length [SVL] measurements) or mark-recapture records, although extremely laborious (HALLIDAY & VERRELL 1988), may be the only way to study population demography in this endangered amphibian species.

Thus, growth models are useful tools for studying life histories because they allow the quantification of important demographical parameters such as age at maturity or differential growth patterns among age and sex groups (FRAZER ET AL. 1990). They have been widely employed for amphibians (ARNTZEN 2000, GUARINO ET AL. 2003, JAKOB ET AL. 2003, CHEONG ET AL. 2007, MATTHEWS & MIAUD 2007), but rarely in the case of closely related species from the family *Discoglossidae* (PLYTYCZ & BIGAJ 1984, COGALNICEANU & MIAUD 2003), and never for species from the family *Alytidae*.

Maximum longevity in wild populations of continental *Alytes* species is poorly known (TABLE 5.1). For the insular endemic species *A. muletensis*, captive individuals are known to have reached at least seven yr of age (BUSH 1993, ROMÁN & MAYOL 1997). This information still needs to be investigated in wild populations of *A. muletensis*. A better understanding of the demography of wild populations, including information on growth rates and mean longevity,

could be useful in the development of management and recovery plans, as well as in constructing population viability models (CHEONG ET AL. 2007).

| Species | Longevity (years) | References |
|------------------------------|-------------------|---|
| <i>Alytes cisternasii</i> | 6 | MÁRQUEZ ET AL., 1997 |
| <i>Alytes dickhilleni</i> | 9 | GONZÁLEZ-MIRAS ET AL., 2012 |
| <i>Alytes obstetricians</i> | 7 | BÓLLET ET AL., 1997; MÁRQUEZ ET AL., 1997 |
| <i>Alytes muletensis</i> | 7* | BUSH, 1993 |
| <i>Bombina bombina</i> | 11-12 | ANANJEVA & BORKIN, 1979; BRIGGS, 1996 |
| <i>Bombina variegata</i> | 12-20 | SY & GROSSE, 1998; PYTYCZ & BIGAJ, 1993 |
| <i>Discoglossus galganoi</i> | 8 | ESTEBAN ET AL., 1998 |
| <i>Discoglossus pictus</i> | 9* | KNOEPFFLER, 1962 |

TABLE 5.1. Longevity of different European anuran species closely related to *Alytes muletensis* (* from captive populations)

Material and methods

To estimate the age of *A. muletensis* individuals, populations from 17 localities were studied from 2005 to 2012. Adult toads were captured and sexed, measuring their SVL to the nearest 0.01 mm. A digital picture of their dorsal surface was taken to identify individuals in future recaptures, following the methodology proposed by PINYA & PÉREZ-MELLADO (2009). Using recapture records, we established the age of a group of males and females, which was correlated to their SVL. Thus, those individuals that were captured as juveniles (post-metamorphic) were assigned an age of one yr, and when the same individual was captured several years later, the appropriate number of years was added to its age. With the SVL and age data, growth curves were constructed for both sexes, based on the nonlinear von Bertalanffy equation (FABENS 1965): $L_t = a(1 - be^{-kt})$, where L_t is the SVL at a specific age, t is the age in years, a is the asymptotic or maximum SVL, b is the SVL at metamorphosis, e is the natural logarithmic base and k is the growth constant.

Von Bertalanffy growth functions were calculated separately for males and females, with juveniles of known sex included in both estimates. Without the inclusion of juveniles, the von Bertalanffy model underestimates the parameters a and k , resulting in incorrect age estimates (SPENCER 2002, MARTINS & SOUZA 2008). After obtaining the parameters a , b and k , the parameter t was estimated based on the original von Bertalanffy equation, resulting in the species' growth curve estimates (ZUG ET AL. 1997, SPENCER 2002).

Once the equations were constructed, they were used to estimate the age of the individuals of unknown age. Then, with the pooled data from both sexes (those individuals of known age and those with an estimated age), the final growth curves of *A. muletensis* were built.

Age data were grouped into 14 age classes: 1, 2, 3, ... 12 yr, 13–14 yr and 15–18 yr. Age-specific growth rate was calculated with the equation: $dSVL/dt = k(SVL_{max} - SVLt)$, which gives the maximal growth rate when SVLt is minimal (MA & LU 2009).

Differences in age, body size and growth rate between sexes were compared with Kruskal-Wallis tests or one-way ANOVA. G-tests were used to compare age structure between sexes. All probabilities were 2-tailed, and the significance level was set at $p = 0.05$. The statistical analyses were carried out in R.

Results

Ages of 422 toads (175 females and 247 males) from a total of 999 sampled toads were estimated using capture-recapture records. The ages of the remaining 577 toads (173 females and 404 males) were estimated using von Bertalanffy growth curves. SVL and growth rates of males and females showed heterogeneous variances (SVL, Fligner-Killeen test, $\chi^2 = 45.88$, $p < 0.001$; growth rates, $\chi^2 = 113.51$, $p < 0.001$), even after log transformation. Thus, we employed a Kruskal-Wallis test to compare sexes.

Females had a mean longevity of 4.70 ± 0.19 yr (range 1 to 18 yr, $n = 347$), which was significantly higher (one-way ANOVA of log-transformed values of ages, $F_{1,995} = 82.13$, $p < 0.0001$; TABLE 5.2, FIGURE 5.1) than the longevity of males (3.24 ± 0.10 yr, range 1 to 18 yr, $n = 650$), whilst the maximum longevity for both males and females was 18 yr (FIGURE 5.2). In addition, there was a significant difference in age structure between the sexes (G-test, $G = 125.88$, $p < 0.001$). Statistical differences were observed between sexes in the 1, 2, 3 and 15 to 18 yr age classes, showing that there were more young males than females, and more females reaching ages of >14 yr than males. The distribution of different age classes indicated that males reached sexual maturity at one yr old, and most females at 2 yr.

Body length (SVL) was significantly larger in females than in males (males, 34.16 ± 0.09 mm, range 28–41.18 mm, $n = 651$; females, 35.69 ± 0.16 mm, range 30.53–41.92 mm, $n = 348$; Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 56.35$, $p < 0.001$, (see TABLE 5.2, FIGURE 5.1 and similar results in PINYA & PÉREZ-MELLADO, 2009).

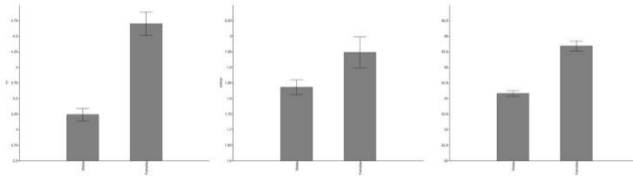


FIGURE 5.1. *Alytes muletensis*. (A) Mean longevity (yr), (B) body size (snout-vent length [SVL], mm) and (C) growth rate (mm yr⁻¹) of female and male toads in the present study. Error bars indicate \pm SE.

| | Body length (SVL, mm) | | Age (years) | | Growth rate (mm/yr) | |
|-------------------|------------------------|---------|-------------|---------|---------------------|---------|
| | Males | Females | Males | Females | Males | Females |
| N | 651 | 348 | 650 | 347 | 651 | 348 |
| Min | 28.00 | 30.53 | 1 | 1 | 0.01 | 0.01 |
| Max | 41.18 | 41.92 | 18 | 18 | 3.44 | 3.55 |
| Mean | 34.16 | 35.69 | 3.24 | 4.70 | 1.84 | 1.95 |
| SE | 0.06 | 0.16 | 0.10 | 0.19 | 1.02 | 0.05 |
| Chi Square | 56.35 | | | | 4.91 | |
| ANOVA | | | 82.13 | | | |
| P | 6.04x10 ⁻¹⁴ | | 0.0001 | | 0.026 | |

TABLE 5.2. Statistical parameters of body length, age and growth rate, and results of Kruskal-Wallis or ANOVA tests for differences between sexes. SVL: snout-vent length. Gaps indicate not applicable

The von Bertalanffy growth curves (FIGURE 5.3) indicated small differences in body sizes between males and females at all ages. The results showed that females had asymptotic body size values (41.96 mm) similar to those of males, but a higher growth coefficient k (0.31) than males (41.22 mm and 0.26, respectively), though this was not statistically significant ($\chi^2 = 1.299$, $p=0.2543$). Growth rate gradually decreased with increasing age. There were significant differences in growth rates between sexes (males, 1.84 ± 0.02 mm yr⁻¹, range 0.1–3.44 mm yr⁻¹, $n = 651$; females, 1.95 ± 0.05 mm yr⁻¹, range 0.01–3.55 mm yr⁻¹, $n = 348$; Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 4.91$, $p = 0.026$), with higher values in females during the first four yr of life and similar values for males and females thereafter (FIGURE 5.4).

Discussion

Primary demographic factors affecting population dynamics include social structure and life history variations (LANDE 1988). The present study focused on basic demographical parameters such as maximum and mean longevity, growth curves, growth rates and age at maturity in wild populations of *A. muletensis*.

As in several amphibians, our data showed a positive correlation between body size (SVL) and age (MIAUD ET AL. 1999, YILMAZ ET AL. 2005, MA & LU 2009). We observed differences in mean

longevity between sexes, biased to older females, whilst the maximum longevity was similar between the sexes. The observed mean longevity was higher when compared with that of female *Alytes obstetricans* and *A. cisternasii* (3.68 and 3.15 yr, respectively; MÁRQUEZ ET AL. 1997), which also have a higher mean longevity than males (2.34 and 2.43 yr, respectively; MÁRQUEZ ET AL. 1997). In general, most studies of amphibians have established that when there are differences in longevity between sexes, females live longer than males (see CHERRY & FRANCILLON-VIEILLOT 1992). Other closely related species, such as *Discoglossus galganoi*, have similar values of mean longevity (four yr; ESTEBAN ET AL. 1998).

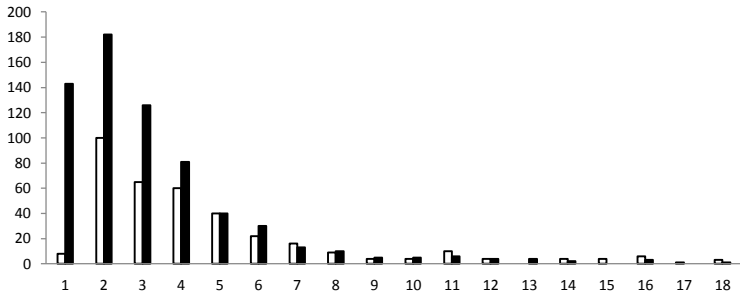


FIGURE 5.2. *Alytes muletensis*. Age distribution (yr) of males (black) and females (white) (total n = 999).

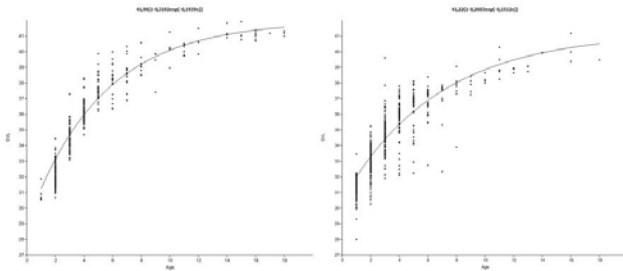


FIGURE 5.3. Growth curves fitted to the von Bertalanffy growth model (black line), with body size (snout-vent length [SVL], in mm) and age data (yr) for (A) female and (B) male toads.

In *A. muletensis*, age at maturity varies between one and two yr, and both sexes are potentially able to reproduce in the first breeding season after metamorphosis, as in other

anuran species (GUARINO ET AL. 2003). Sexual maturity is delayed in a closely related species *Discoglossus pictus* (4 yr; KNOEPFFLER 1962).

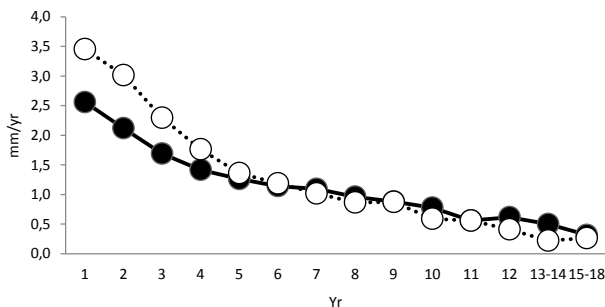


FIGURE 5.4. Growth rate of males (black dots) and females (empty dots) at all age stages.

The maximum longevity recorded was 18 yr in both sexes, but this value should be considered exceptional, because most of the captured individuals (90%) were no more than 6 (males) or 9 yr old (females). In fact, this maximum value is the highest longevity ever recorded for the genus *Alytes* (BÔLLET ET AL. 1997, MÁRQUEZ ET AL. 1997, GONZÁLEZ-MIRAS ET AL. 2012), but is similar to the values recorded in the related genus *Bombina*, with a maximum longevity of 20 yr (PYTYCZ & BIGAJ 1984).

Greater longevity values for females have previously been reported for some species of anurans (CHERRY & FRANCILLON-VIEILLOT 1992, LECLAIR & LAURIN 1996, GUARINO ET AL. 2011), and this result is generally interpreted as the consequence of a delayed sexual maturity (KYRIAKOPOULOU-SKLAVOUNOU ET AL. 2008) or a lower predation pressure on females (CHERRY & FRANCILLON-VIEILLOT 1992). In the case of *A. muletensis*, the first interpretation is convincing, because age at maturity is higher in females than in males. The assumption that adult males of *A. muletensis* should have a higher mortality due to predation is not yet verified.

Growth of amphibians fits the von Bertalanffy model acceptably well, indicating that age and growth rate operate additively to determine the body size of individual amphibians (MA & LU 2009). Sexual size dimorphism depends on the relative importance of age and growth rate parameters in the two sexes (MA & LU 2009). In *A. muletensis*, females and males gradually attained the estimated asymptotic SVL.

Females showed a higher growth rate and a greater average age than males, but a similar lifespan. A combination of these variables is frequently related to delayed reproduction of females (HALLIDAY & TEJEDO 1995, MONNET & CHERRY 2002), with females reaching maturity at a higher age than males, as was the case in our data for *A. muletensis*. This age-specific sexual size dimorphism has frequently been reported among anurans, and is, in general, the result of sexual differences in growth rates (MA & LU 2009 and references therein).

In conclusion, we provided measurements of the mean longevity, growth curves, growth rates and age at maturity for 17 wild populations of *A. muletensis*, which enables demographic comparisons between populations. These findings will be valuable to the recovery plan of this endemic and threatened toad.

Acknowledgements

We thank Joan A. Oliver, M^{re}. Antònia Vanrell and Joan C. Salom, from the Balearic Environmental Agency for the administrative support which enabled us to conduct our studies with the Balearic midwife toad. We are also grateful to all the people that supported us during fieldwork, particularly Xavier Manzano and Jaume Bonnin.

References

- ANANJEVA N.B. & BORKIN L.J. (1979). Ecology and systematic of amphibians and reptiles. *Acad. Sci. Zool. Inst.* 89
- ARNOLD E.N. (2003) Reptiles and amphibians of Europe. Princeton University Press, Princeton and Oxford.
- ARNTZEN J.W. (2000). A growth curve for the newt *Triturus cristatus*. *Journal of Herpetology*, 34(2): 227-232.
- ALCOVER J.A., MAYOL, J., JAUME, D., ALOMAR, G. & JURADO J. (1984): Biologia i Ecologia de les poblacions de *Baleaphryne muletensis* a la muntanya mallorquina. A Hemmer, H., Alcover, J.A. (Eds.) Història Biològica del Ferreret. 129-152. Monografies científiques, 3. Editorial Moll. Palma de Mallorca.

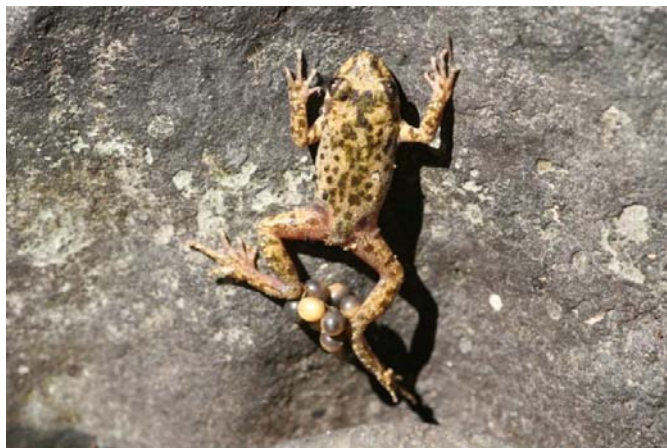
- BÖLLET S., ERBEN, R.G. & LINSENMAYER, K.E. (1997). Wie zuverlässig ist die skeletochronologische Altersbestimmung bei der Geburtshelferkröte *Alytes obstetricans*? *Mertensiella*, 7: 315-327.
- BUSH S.L. (1993): Courtship and male parental care in the Majorcan midwife toad, *Alytes muletensis*. PhD Dissertation. University of East Anglia. Norwich, England.
- BRIGGS L. (1996). Populationsdynamische Untersuchungen und Rotbauchunken-Populationen mit verschiedenen Landbiotopen. In Krone and Kühnel (Ed.) Die Rotbauchunke (*Bombina orientalis*): Ökologie und Bestandssituation. RANA, Natur & Text, Berlin, 1: 32-46.
- CASTANET J. (2002). Amphibiens et Reptiles non aviens: un matériel de choix en squeletochronologie. *Bull. Soc. Herp. Fr.*, 103: 21-40.
- CASTANET J. & SMIRINA, E. (1990). Introduction to the skeletochronological method in amphibian and reptiles. *Ann. Sci. Nat. Zool.*, 11: 191-196.
- CHEONG S., DAESIK P., HA-CHEOL S., JUNG HYUN L. & SHI-RYONG P. (2007) Skeletochronological age determination and comparative demographic analysis of two populations of the gold-spotted pond frog (*Rana chrysina*). *J. Ecol. Field. Biol.*, 30 (1): 57-62.
- CHERRY M.I. & FRANCILLON-VIEILLOT, M. (1992): Body size, age and reproduction in the leopard toad, *Bufo pardalis*. *J. Zool. Lond.* 228: 41-50.
- COGALNICEANU D. & C. MIAUD (2003). Populations age structure and growth in four syntopic amphibian species inhabiting a large river floodplain. *Can. J. Zool.*, 81: 1096-1106.
- ESTEBAN M., CASTANET J. & SANCHIZ B. (1998). Inferring age and growth from remains of fossil and predated recent anurans: a test case using skeletochronology. *Canadian Journal of Zoology*, 76: 1689-1695.
- FABENS A.J. (1965). Properties and fitting the von Bertalanffy growth curve. *Growth*, 29: 265-289.
- FRAZER N.B., J.W. GIBBONS & J.L. GREENE. (1990). Exploring Faben's growth interval model with data on a long-lived vertebrate, *Trachemys scripta* (Reptilia: Testudinata). *Copeia* 1990: 112-118.

- GONZÁLEZ-MIRAS E., GARCÍA-CARDENETE L. & TEJEDO M. (2012): Historia Natural. Pp. 17-22. In: BOSCH J. & GONZÁLEZ-MIRAS E. (2012). Seguimiento de *Alytes dickhilleni*: Informe final. Monografías SARE, 02. Asociación Herpetológica Española – Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, Madrid. 84 pp.
- GUARINO F.M., S. LUNARDI, M. CARLOMAGNO & S. MAZZOTTI. (2003). A skeletochronological study of growth, longevity and age at sexual maturity in a population of *Rana latastei* (Amphibia, Anura). *J. Biosci.*, 28 (6): 775-782.
- GUARINO F.M., P. DE POUS, A. CROTTINI, M. MEZZASALMA & F. ANDREONE (2011) Age structure and growth in a population of *Pelobates varaldii* (Anura, Pelobatidae) from northwestern Morocco. *Amphibia-Reptilia* 32: 550-556
- HALLIDAY T.R. & M. TEJEDO (1995). Intrasexual selection and alternative mating behavior. In: Amphibian Biology, p 419-468. Heatwole H., Sullivan B.K., Eds. New South Wales, Australia, Surrey Beatty and Sons, Chipping Norton.
- HALLIDAY T.R. & VERRELL P.A. (1988). Body size and age in amphibians and reptiles. *J. Herpetol.*, 22: 253-265
- JAKOB C., C. MIAUD, A.J. CRIVELLI & M. VEITH. (2003). How to cope with periods of drought? Age at maturity, longevity and growth of marbled newts (*Triturus marmoratus*) in Mediterranean temporary ponds. *Can. J. Zool.*, 81: 1905-1911.
- KNOEPFFLER L. P. (1962). Contributions a l'étude du genre *Discoglossus* (Amphibiens, Anoures). *Vie et Milieu*, 13: 1-94.
- KYRIAKOPOULOU-SKLAVOUNOU P., STYLIANOU P. & TSIORA A. (2008): A skeletochronological study of age, growth and longevity in a population of the frog *Rana ridibunda* from southern Europe. *Zoology* 111: 30-36.
- LANDE R. (1988) Genetics and Demography in Biological Conservation. *Science*, 241 (4872): 1455-1460.
- LECLAIR R. JR. & LAURIN, G. (1996): Growth and body size in population of mink frogs *Rana septentrionalis* from two latitudes. *Ecography* 19: 296-304.

- MA X. & LU X. (2009). Sexual size dimorphism in relation to age and growth based on skeletochronological analysis in a Tibetan frog. *Amphibia-Reptilia*, 30: 351-359.
- MATTHEWS K.R. & C. MIAUD. (2007). A Skeletochronological Study of the Age Structure, Growth, and Longevity of the Mountain Yellow-legged Frog, *Rana muscosa*, in the Sierra Nevada, California. *Copeia*, 2007(4): 986-993.
- MÁRQUEZ R., ESTEBAN M. & CASTANET J. (1997). Sexual size dimorphism and age in the midwife toads *Alytes obstetricans* and *A. cisternasii*. *Journal of Herpetology*, 31: 52-59.
- MIAUD C., GUYÉTANT R. & ELMBERG J. (1999). Variations in life-history traits in the common frog *Rana temporaria* (Amphibia:Anura): a literature review and new data from the French Alps. *J. Zool. Lond.*, 249: 61-73.
- MONNET J. & CHERRY M.I. (2002). Sexual size dimorphism in anurans. *Proc. R. Soc. Lond. B* 269: 2301-2307.
- PINYA S., & V. PÉREZ-MELLADO. 2009. Individual identification and sexual dimorphism in the endangered Balearic midwife toad, *Alytes muletensis* (Sanchíz and Adrover, 1981). *Amphibia-Reptilia* 30:439-443.
- PLYTYCZ B. & BIGAJ J. (1984) Preliminary Studies on the growth and movements of the yellow-bellied toad, *Bombina variegata* (Anura: Discoglossidae). *Amphibia-Reptilia*, 5: 81-86.
- ROMÁN A. (2002): *Alytes muletensis*. In: PLEGUEZUELOS J.M., R. MÁRQUEZ & M. LIZANA (eds) Atlas y Libro rojo de los Anfibios y Reptiles de España. Dirección General de Conservación de la Naturaleza and Asociación Herpetológica Española. Madrid. 79-81.
- ROMÁN A. & MAYOL J. (1997): La recuperación del ferreret, *Alytes muletensis*. Documents tècnics de Conservació 1. Conselleria de Medi Ambient, Ordenació del Territori i Litoral
- SPENCER R.J. (2002). Growth patterns of two widely distributed freshwater turtles and a comparison of common methods used to estimate age. *Australian Journal of Zoology*, 50: 477-490

- SY T. & GROSSE W.R. (1998). Populationsökologische Langzeitsudien and Gelbbauchunken (*Bombina v. variegata*) im nordwestlichen Thüringen. *Z. Feldherpetol.* 5: 81-113.
- YILMAZ N., KUTRUP B., ÇOBANOĞLU U. & ÖZORAN Y. (2005). Age determination and some growth parameters of a *Rana ridibunda* population in Turkey. *Acta Zool. Acad. Sci. Hung.* 51: 67-74.
- ZUG R.G., J. KALAB & J. LUZAR. (1997). Age and growth in wild Kemp's Ridley Seaturtles *Lepidochelys kempii* from skeletocronological data. *Biological Conservation*, 80: 261-268.

PINYA S. & PÉREZ MELLADO, V. (2014). Clutch size in wild populations of *Alytes muletensis*. *Acta Herpetologica*, 9(1): 115-117



Abstract

The clutch size of genus *Alytes* presents highly variable differences both inter and intraespecifically, with *A. muletensis* as the species with the smallest clutch size of the genus. Most of the previously published information was obtained from captive individuals. In this study we analyzed a large sample of clutches from wild populations and compared clutch size to previous published information from both captive and wild populations. Our results showed that in wild males, the size of single do not differ significantly from captive ones, while multiple clutches are more common in wild males.

Key words

Alytes muletensis, clutch size, wild populations, endemic species, Balearic Islands

Introduction

In all species of genus *Alytes*, parental care of eggs is performed by males. Female expels a strand of eggs, which male fertilizes before wrapping them around his legs to protect them from predators. When the eggs are ready to hatch, the male wades into shallow water to allow the eclosion of tadpoles (STEBBINS & COHEN, 1997).

Five separate species of midwife toads are found across Western Europe, Northern Africa, and Mallorca Island: *Alytes obstetricans*, *Alytes cisternasii*, *Alytes dickhilleni*, *Alytes maurus* and *Alytes muletensis* (MARTINEZ-SOLANO ET AL., 2004). The clutch size of the genus *Alytes* is highly variable both inter and intraespecifically (TABLE 5.3), with *A. muletensis* as the species with the smallest clutch size of the genus (ALCOVER ET AL., 1984) (FIGURE 4.5).



FIGURE 5.5. Detail of a male of *A. muletensis* carrying an clutch

As in other *Alytes* species, the clutch size of *A. muletensis* is fairly variable, according to the data published by different authors (TABLE 5.4). ALCOVER ET AL., (1984) established an average clutch size in wild individuals of 9.78 (range from 7 to 12 eggs, n=9) in the first compilation of biological and ecological information about this amphibian species (HEMMER & ALCOVER, 1984). However, in the same publication, a different clutch size was assigned for captive individuals, with a range from 10 to 24 eggs (MARTÍNEZ-RICA ET AL. 1984). In a later study, an average clutch size of captive individuals of 11.46 eggs with a range from 9 to 15 eggs was given (TONGE & BLOXAM, 1989).

Work on captive breeding carried out by Bush (1993) showed the existence of double clutches in *A. muletensis*, which had not been previously described (Bush, 1996). Bush (1993) found single clutches (less than 15 eggs) with an average of 10.00 eggs (range from 4-14 eggs). Taking into account double clutches, the average increased to 11.36 eggs (range from 4 to 27, calculated from Bush's, 1996 data). Finally, a maximum clutch size of 34 eggs was provided by

ROMÁN & MAYOL (1997), which presented an average clutch size of 11 eggs. Consequently, most of the available information for clutch size in *A. muletensis* has come from captive individuals, with the only one study on wild populations (ALCOVER ET AL., 1984).

| Species | Average | Range | Reference |
|------------------------|---------|--------|---|
| <i>A. obstetricans</i> | 63 | 35-95 | CRESPO, 1979 |
| | 104 | 46-143 | LÓPEZ-JURADO ET AL., 1979 |
| | 51 | 24-142 | BUCHHOLZ, 1989 |
| | 38 | 5-120 | GALÁN ET AL., 1990 |
| | 27 | 21-33 | GALÁN ET AL., 1990 |
| | 55 | 24-77 | GALÁN ET AL., 1990 |
| <i>A. cisternasi</i> | 34 | 6-53 | GALÁN ET AL., 1990 |
| | 77 | 32-171 | READING, CLARKE, 1998 |
| | 73 | 42-119 | CRESPO, 1979 |
| | 104 | 46-143 | LÓPEZ-JURADO ET AL., 1979 |
| <i>A. dickhilleni</i> | 73 | 48-116 | MALKMUS, 1983 |
| | 87 | 20-180 | MARQUEZ, 1989 |
| <i>A. dickhilleni</i> | 74 | 28-149 | GONZÁLEZ-MIRAS, GARCÍA-CARDENETE & TEJEDO, 2012 |
| <i>A. maurus</i> | - | 60-70 | DONAIRE-BARROSO, BOGAERTS, 2003 |

TABLE 5.3. Clutch size in continental *Alytes* species, showing the average number of eggs per clutch, the minimum and the maximum number per clutch and the source of information

| Population type | Average | N | Range | Reference |
|---------------------|---------|-----|-------|-----------------------------|
| Natural | 9.78 | 9 | 7-12 | ALCOVER ET. AL, 1984 |
| Captive | - | - | 10-24 | MARTÍNEZ-RICA ET AL., 1984. |
| Captive | 11.43 | - | 9-15 | TONGE & BLOXAM, 1989 |
| Captive | 11.36 | 220 | 4-27 | BUSH, 1996 |
| Captive and Natural | 11 | - | -34 | ROMÁN & MAYOL, 1997 |

TABLE 5.4. Summary of the previously published information about the clutch size in *A. muletensis*, showing the type of population, the average clutch size, sample size (if available), minimum and maximum number of eggs per clutch, and the source of information

Material and methods

In order to establish demographic parameters of *A. muletensis* wild individuals, a sample of 92 clutches were studied from 11 natural and 7 artificial wild populations, during the period 2007-2010. We considered artificial populations those which inhabit in human being buildings in the wild, such as watering holes for cattle or cisterns of water supply for humans of the last century. These populations were established from captive bred animals in the 1990s and the current sample represents their descendants. On the other hand, natural populations are considered those which inhabit in torrents and isolated natural pools. The clutch size was determined by counting the number of eggs of empty strings and egg capsules that were released from males after the tadpoles emerged, considering only those which were recently released.

A descriptive statistical analysis was carried out to determine the minimum and maximum value, the standard error, the variance, and the standard deviation (TABLE 5.5). One way

ANOVA analysis was applied to compare egg clutches from natural populations (ALCOVER ET AL., 1984 vs. current study), from captive and natural populations (BUSH, 1996 vs. Current study) and from artificial and natural populations of the current study. Chi Square analysis to compare frequencies of multiple clutching. All statistical analyses were done with Statistica (ver. 6.0).

| Type of population | N | Min. | Max. | Mean | SE | Variance | SD |
|-------------------------|-----|------|------|-------|------|----------|------|
| Natural (Current paper) | 92 | 4 | 34 | 12.04 | 0.59 | 32.53 | 5.70 |
| Captive (BUSH, 1996) | 220 | 4 | 27 | 11.36 | 0.25 | 14.05 | 3.75 |

TABLE 5.5. Descriptive statistics of clutch size from natural and captive individuals.

Results and discussion

Our data reveal an average clutch size of 12.04 eggs in wild populations under study (n=92 clutches, TABLE 5.5). Comparing these values with previously published average from wild individuals (n=9 clutches, ALCOVER ET AL., 1984), we do not find significant differences (ANOVA, $F_{1,99} = 1.395$, $P = 0.241$). The lack of significant differences may be explained because of the small sample size analyzed by ALCOVER ET AL. (1984). Comparisons of clutch size of captive individuals (n=220 clutches, BUSH 1996) with clutch size of wild individuals in this study revealed no differences (ANOVA, $F_{1,319} = 0.826$, $P = 0.364$). Also no significant differences were found between clutches from natural (n=41) and artificial wild (n=51) populations (ANOVA, $F_{1,92} = 1.308$, $P = 0.256$).

The observed range of egg clutch size found in this study, is the largest known for both, wild and captive populations, and agrees with the minimum and maximum values previously published (ALCOVER ET AL., 1984; BUSH, 1996; ROMÁN & MAYOL, 1997).

Multiple clutches are common in natural populations of continental midwife toads (BUSH, 1996). Between 56 to 61 % of brooding males in *A.obstetricans* and 80 % in *A. cisternasii* carries two or more clutches of eggs simultaneously (READING & CLARKE, 1988; MÁRQUEZ 1990). In *A. muletensis*, double clutches are rare and only 12-14 % of the male's double clutch (BUSH 1996). On the other hand, triple clutches, those with more than 28 eggs, were first reported with a record of 34 eggs (ROMÁN & MAYOL, 1997), but their frequency were not calculated. However, our data showed that 23.91 % of the analyzed clutches of *A. muletensis* were considered multiple in wild populations, and 3.26 % of them were triple.

Comparing the occurrence of multiple clutching in wild individuals with the previously published data on captive individuals, we found significant differences. Significantly more

multiple clutches were found in wild individuals ($\chi^2 = 5.30$, $P < 0.02$). The low incidence of multiple clutches in captive individuals may be due to the short time available for a male to obtain the second clutch from a female (BUSH, 1996). Males in wild populations may have longer time interval over which they can accept additional clutches. In addition, the operational sex ratio during the breeding season also determines the potential for multiple clutches. If more females are available (the OSR is less male biased or female biased) there will be potential for males to mate with more than one female in a short time period and hence brood more than one clutch (BUSH, 1996). It is also possible that, wild individuals breed at higher densities than captive individuals, and wild males may obtain more second clutches simply because they are more likely to encounter more than one gravid females within their receptive period.

In conclusion, this study has added to our knowledge of the life history of wild populations of *A. muletensis*, and as such may go some way to help conserve this endangered species. The calculated clutch size allows us to increase the knowledge of this life history trait in wild populations, that was still unknown. Further efforts on improving the knowledge of biological and ecological parameters need to be done, because of the importance of this knowledge for effective testing of demographical models and predicting population evolution. In an endangered species like *A. muletensis*, it is crucial to evaluate conservation status and to apply this knowledge in future conservation actions and policies.

Aknowledgements

We thank to Joan A. Oliver, M^a. Antònia Vanrell and Joan C. Salom from the Balearic Environmental Agency, who give us administrative support and the capture permits (19/2007, 44/2008, 07/2009, 13/2010) to do our studies with the Balearic midwife toad, and all the people that support us during fieldwork, specially Xavier Manzano and Jaume Bonnin.

References

- ALCOVER J.A., MAYOL J., JAUME D., ALOMAR G. & JURADO J. (1984) Biología i Ecologia de les poblacions de *Baleaphryne muletensis* a la muntanya mallorquina. In: Història Biològica del Ferreret. Monografies científiques 3, pp. 129-152. HEMMER H. & ALCOVER J.A., Eds, Editorial Moll, Palma de Mallorca.

- BUCHHOLZ S. (1989) Untersuchungen zur Fortpflanzungsbiologie und Populationsdynamik einer Freilandpopulation von *Alytes obstetricans* (Amphibia, Anura, Discoglossidae). Diplomarbeit, Universität Würzburg, 81 S.
- BUSH S.L. (1993) Courtship and male parental care in the Majorcan midwife toad, *Alytes muletensis*. Unpublished doctoral dissertation. University of East Anglia, Norwich.
- BUSH, S. L. (1996) Why is double clutching rare in the Majorcan midwife toad?. *Animal Behaviour* 52: 913-922.
- CRESPO E.G. (1979): Contribução para o conhecimento da biologia dos *Alytes* ibéricos, *Alytes obstetricans boscai* LATASTE 1879 e *A. cisternasii* BOSCÁ 1879: a problemática da especiação de *A. cisternasii*. Unpublished doctoral dissertation. University of Lisboa.
- GALÁN P., VENCES M., GLAW F., FERNÁNDEZ-ARIAS B. & GARCÍA-PARÍS M. (1990) Beobachtungen zur Biologie von *Alytes obstetricans* in Nordwesttiberien. *Herpetofauna* 12 (65): 17-24.
- GONZÁLEZ-MIRAS E., GARCÍA-CARDENETE L. & TEJEDO M. (2012) Historia Natural. In: Seguimiento de *Alytes dickhilleni*: Informe final. Monografías SARE 02, pp. 17-22. In: BOSCH J. & GONZÁLEZ-MIRAS E., Eds. Asociación Herpetológica Española, Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, Madrid.
- MALKMUS R. (1983) Zur Fortpflanzungsbiologie von *A. cisternasii*. *Weinstadt* 5: 30-34.
- MÁRQUEZ R. (1990) Male parental care, sexual selection, and the mating systems of the midwife toads *Alytes obstetricans* and *Alytes cisternasii*. Unpublished doctoral dissertation. University of Chicago.
- MARTÍNEZ-RICA J.P., PARDO M.P. & CERVANTES J. (1984) La reproducción y la conducta en cautividad del sapillo balear, *Baleaphryne muletensis*. In: Història Biològica del Ferreret. Monografies científiques 3, pp. 175-191. HEMMER H. & ALCOVER J.A., Eds, Editorial Moll, Palma de Mallorca.
- MARTÍNEZ-SOLANO I., GONÇALVES H.A., ARNTZEN W. & GARCÍA-PARÍS M. (2004) Phylogenetic relationships and biogeography of midwife toads (Discoglossidae: *Alytes*). *Journal of Biogeography* 31: 603-618
- READING C.J. & CLARKE, T. (1988): Multiple clutches, egg mortality and mate choice in the midwife toad, *Alytes obstetricans*. *Amphibia-Reptilia* 9: 357-364
- ROMÁN A. & MAYOL J. (1997) La recuperación del ferreret, *Alytes muletensis*. Documents tècnics de Conservació 1. Conselleria de Medi Ambient, Ordenació del Territori i Litoral, Palma de Mallorca.

- STEBBINS R.C. & COHEN N.W. (1995) A Natural History of Amphibians. Princeton University Press. Chichester, West Sussex.
- TONGE S. & BLOXAM Q. (1989) Breeding the Mallorcan midwife toad *Alytes muletensis* in captivity. *International Zoo Yearbook* 28: 45-53.



CAPÍTULO VI CICLO VITAL

PINYA S. TAVECCHIA G. & PÉREZ MELLADO V. (Submitted). Adult survival and male fitness of an insular amphibian with male parental care. *Journal of Zoology*.

Abstract

In anurans, the only known case of parental care provided only by males is within the genus *Alytes*. This behaviour might result in a survival cost for males compared to females. Using individual capture-recapture data of the Majorcan midwife toad, *Alytes muletensis*, we assessed local survival in adult males and females. We concluded that the reproductive investment of adult males does not result in a lower probability of local survival compared to females (0.737 ± 0.042 and 0.726 ± 0.045 , respectively). We found evidence for a low local survival of juveniles, most likely due to permanent dispersal. A stage-dependent matrix incorporating survival and *per-capita* male fertility suggested that the average fitness of males was 1. Perturbation analyses indicated a higher elasticity of the adult survival (0.79) but also of the probability to undergo an early metamorphosis (0.20). Early metamorphosis is expected to give an average fitness increase of about 30% compared to late-metamorphic toads. Selection for a fast cycle in males is probably an important force in the evolution of the sexual-size dimorphism in this species.

Key words

Capture-recapture, Pollock's robust design, population modeling, *Alytes muletensis*, Balearic Islands.

Introduction

Several species of amphibians do not provide parental care. When parental care is provided, it can include attendance of the eggs, transportation of eggs or larvae and feeding of larvae (DUELLMAN & TRUEB, 1986). In all known cases amongst amphibians, mobile parental care involves the transportation of eggs and/or larvae by males or females. The only known case where egg-carrying is made by a terrestrial male anuran is within the genus *Alytes* (BOULENGER, 1897; CRESPO, 1979; CRUMP, 1995). We do not know the origin of this unique form of parental care. The genus *Alytes* can be more than 15 million years old (MAXSON & SZYMURA, 1985) so this form of parental care can be very ancient (WELLS, 2007).

It is clear that the attendance of eggs by males can entail some costs in terms of predation risk, energetic or reproductive costs (WELLS, 2007 and references therein). Male midwife toads frequently carry eggs from different clutches (READING & CLARKE, 1988), so males are able to mate with more than one female per breeding season. Furthermore, the breeding period is relatively short and consequently, females are available for only a short period and the costs to carry eggs, in terms of less mating opportunities for males, can be reduced (MÁRQUEZ, 1992).

Here we used individual capture-recapture data of Majorcan midwife toad, *Alytes muletensis*, to estimate survival in females and males. In this species males are typically 20% smaller than females (PINYA & PÉREZ-MELLADO, 2009). In this genus, parental care is exclusively provided by males, a unique case in anuran species of temperate zone (CRUMP, 1995). The information on wild populations of this species is limited to larvae counts and most demographic parameters are unknown (but see PINYA, PÉREZ-MELLADO, & SUÁREZ-FERNÁNDEZ, 2012; PINYA & PÉREZ-MELLADO, 2013, 2014). Because of the existence of this particular parental care, we predicted a male-biased mortality as a consequence of its higher reproductive effort. Moreover, because male fecundity depends on the number of broods a male could carry (usually between 1 and 3, see Reading and Clarke, 1988), male fitness does not depend on the outcome of male-male contests (MÁRQUEZ, ESTEBAN, & CASTANET 1997) and can be estimated. We combined the estimated survival and fecundity values into a Lefkovich matrix (CASWELL, 2001) to assess the average fitness of males into the population and to identify the parameters that most influence it (VAN TIENDEREN, 2000).

Methods

Species, study site and data collection

The Majorcan midwife toad (*Alytes muletensis*) is an endemic species from Majorca Island (Balearic Islands, Spain). It is considered a Vulnerable (VU D2) species in the Red List of Threatened Species (IUCN, 2008). Here we used data from a population inhabiting a XIX century construction, originally built to retain water for human and livestock consumption. Nowadays, the water is not managed and its volume varies slightly during the year (PINYA, 2009). In this population, the Balearic Government carried out several tadpole surveys until present (FIGURE 6.2). In addition, from 2008 to 2011, the population was visited each year between mid-July and the beginning of September to search for subadult and adult toads.

Each year the population was visited multiple times ($n=14$), four in 2008, three in 2009, four in 2010 and three in 2011. Visits within a season were spaced by a minimum of seven and a maximum of twenty-three days. Toads were captured by hand and adult toads were sexed using morphometric characters (PINYA & PÉREZ-MELLADO 2009). Before release, each individual was measured and photographed using a digital camera. Individual recognition was based on the unique pattern of skin spots (PINYA & PÉREZ-MELLADO 2009). At first capture, toads were sorted into three groups: adult males ($n=64$), adult females ($n=55$) and juveniles ($n=15$), i.e. individuals of unknown sex that had just completed the metamorphosis.



FIGURE 6.1. Inside of a XIX century construction where the population inhabits.

Adult survival

Annual survival probability, S_i , between sessions i and $i+1$, and population size at i , N_i , were estimated by maximum likelihood procedure using capture-recapture models from incomplete encounter histories of individual toads (LEBRETON ET AL. 1992). We only considered adult data due to the small number of recaptures of toads marked as juvenile ($n=2$). Parameter estimates were obtained using Pollock's robust design by coding capture-

recapture data on encounter histories, where '1' coded for a capture event and a '0' for a failure in capture (Pollock et al. 1992).

Pollock's robust design has the advantage of estimating the survival probability, S_i , between two sessions (namely 'primary occasions'), taking into account the information collected during the multiple capture-recapture occasions within a given session. Assuming that mortality does not occur during these shortly-spaced occasions (namely 'secondary occasions'), it is possible to estimate the conditional probability, p^* , of capturing an individual estimated to be alive and present at i , and to use this value to estimate the population size at time i , N_i (POLLOCK ET AL. 1992).

In addition, Pollock's robust design incorporates two parameters to describe the probability of temporal emigration between primary sessions. These parameters are: the probability \mathcal{Y}'_i , to leave the area at i for an individual estimated to be into the area at $i-1$ and the probability, \mathcal{Y}_i , of staying outside the study area given it had temporally emigrated at $i-1$. Constraints on these parameters set the hypotheses on individual movements, for example, a model with $\mathcal{Y}'=\mathcal{Y}$ assumes random movements form and into the area, while setting $\mathcal{Y}'=0$ (and $\mathcal{Y}=1$) assumes no temporal emigration.

Capture-recapture models are based on several assumptions. The most important assumptions are the following: individuals must behave independently, they must share the same parameters and their future history should not be influenced by the present event. In open populations, the adequacy of a full time-dependent model can be assessed using informative tests (see Appendix I in TAVECCHIA ET AL. 2008). A similar set of tests for the Pollock's robust design is not available. A partial solution is to use the informative goodness of fit test for the 'open' part of the data, i.e. primary sessions, pooling the data of the secondary occasions. Hence, we used software U_CARE (CHOQUET ET AL. 2002) to assess the adequacy of a sex- and time-dependent model using only data from the primary occasions.

After assessing the goodness of fit of a general sex- and time-dependent model, we simplified model structure by first assuming the same probability of capture for already and newly marked toads in secondary occasions. Following WHITE & BURNHAM (1999), we then identified a set of models according to the biological hypotheses of interest including whether movement parameters, \mathcal{Y}' and \mathcal{Y} , were consistent with a random pattern or with the absence of temporary movements. All models were built and fit the data using software MARK (WHITE

& BURNHAM 1999). Model selection followed the AICc value and the model with the lowest value was considered the best compromise between model deviance and model complexity (BURNHAM & ANDERSON 2002). Estimates used in the Lefkovich's model (see below) were derived by averaging methods (BURNHAM & ANDERSON 2002).

Number of tadpoles, fertility and juvenile survival

During the month of July, when the number of tadpoles is at its peak, we counted them in different locations. Most of these tadpoles conclude their metamorphosis by the end of the summer, but those from late clutches tend to stay as a tadpole their first year. In 2011 we repeated the tadpole count in January to estimate the number of tadpoles that remained in this state over the winter. This was used to calculate the proportion of tadpoles that completed the metamorphosis before the winter. Individual fertility and juvenile survival in amphibians are challenging measures to obtain in natural populations. This is particularly evident in midwife toads, where clutches are carried by males and the number of observed clutches depends on the probability of capturing carrying toads. Males can carry one-three clutches at the same time and when the number of carried eggs was more than 14, we assumed they came from more than one clutch (BUSH 1993; PINYA & PÉREZ-MELLADO, 2014).

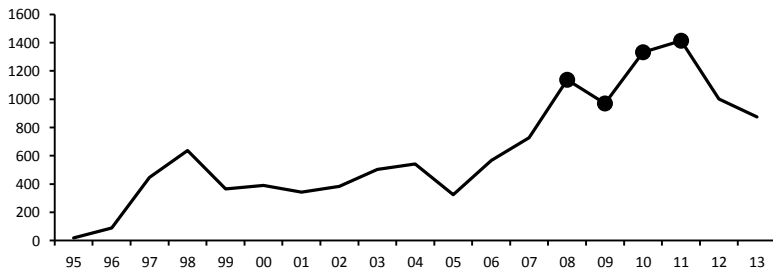


FIGURE 6.2. Evolution of the tadpole population size counted during the annual monitoring under the recovery plan of the species.

The average number of fertile eggs was then calculated by dividing the total number of fertile eggs by the total number of eggs in each clutch. We also relied on an equally simple estimate for the survival of tadpoles and juveniles, noted S^T and S^S , respectively. Strictly speaking, these quantities are mere proportions since they were estimated by dividing the number of animals observed in a given state by the number of them observed on the successive one, a similar

approach was used for life tables. Because we assumed each individual to be independent, the variance of the proportion, θ , can be calculated as $(1-\theta)\theta/k$, where k is the sample size.

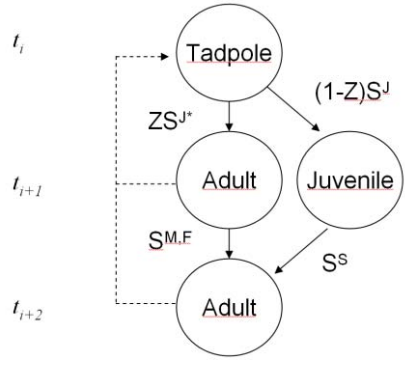
Lifecycle of midwife toads and the average male fitness

The lifecycle of Majorcan midwife toads can be simplified into three main stages: tadpole, juvenile and adult (FIGURE 6.3). Midwife breeding season lasts about six months, with first clutches found at the beginning of March and the last ones as late as during August (ROMÁN & MAYOL 1997) and, in some locations, they can be even be found before the autumn. Early born animals started the metamorphosis in July. Hence, the transition to juvenile typically takes place during the first summer. However, tadpoles from late clutches become juvenile the next summer. The juvenile stage lasts roughly a year in males and two years in most females (PINYA & PÉREZ-MELLADO 2013). Thus, individuals from early clutches are sexually mature on their first birthday, while males from late clutches will mature a year later. Wild females typically produce two clutches per year, made by an average of 9-12 eggs (ALCOVER ET AL. 1984). Males can carry a maximum of three clutches until eggs are hatching. We estimated average fitness of males by combining stage dependent survivals and fecundity into a Lefkovitch matrix model, M , (CASWELL 2000). The matrix M contains the parameters describing the transitions from the stage and from time t to $t+1$ as:

$$M = \begin{bmatrix} 0 & 0 & F S^M; & (1-Z) S^T & 0 & 0; & Z S^{T*} & S^J & S^M \end{bmatrix}$$

where: Z is the probability of becoming a juvenile during the first summer, S^M is the male annual survival, S^J is the annual survival of juvenile toads, S^T is the annual survival of a tadpole, F is the number of fertile eggs per breeding males and S^{T*} is the annual survival probability of a tadpole that became a juvenile in the first summer. This last parameter is the combined probability of surviving during four months as a tadpole, i.e. $(S^T)^{4/12}$, and for eight months as a juvenile, i.e. $(S^J)^{8/12}$. We assumed even sex-ratio and three clutches per breeding male per season. The greatest eigenvalue of M , noted λ , is the expected average fitness within the population (see ROFF 1992; CASWELL 2000; VAN TIENDEREN 2000). To account for parameter uncertainty, we randomly selected the value of the parameters from a distribution with the observed mean and variance (TABLE 6.2). We replicated this procedure a thousand times to estimate λ and its standard error. Finally, we used the average values to calculate the

elasticity of each
to find the
contribution of a
 λ .



parameter, that is,
proportional
given parameter to

FIGURE 6.3. Schematic representation of the life cycle of a male Majorcan midwife toad. F=average number of tadpoles per females, Z=proportion of early-metamorphic toads, S^J = Survival from tadpole to juvenile, S^I = Survival from juvenile to adult, S = Adult survival. Transition to the tadpole stage (dashed lines) is represented by average fertility.

| Model | Temporal movements | | | Survival | | Recapture | | AICc | ΔAICc | AICcw | Np |
|-------|--------------------|-----|-------|--------------------|-----|--------------|-----|--------|-------|-------|----|
| | Time | Sex | Fixed | Time | Sex | Time | Sex | | | | |
| 1 | √ | √ | X | √ | √ | √ | √ | 230.58 | 70.92 | 0.00 | 54 |
| 2 | X | √ | X | √ | √ | √ | √ | 210.16 | 50.50 | 0.00 | 48 |
| 3 | X | √ | X | X | √ | √ | √ | 202.12 | 42.46 | 0.00 | 44 |
| 4 | X | X | R | X | √ | √ | √ | 193.23 | 33.57 | 0.00 | 41 |
| 5 | X | √ | R | X | √ | √ | √ | 196.00 | 36.34 | 0.00 | 42 |
| 6 | X | X | √ | X | √ | √ | √ | 190.10 | 30.44 | 0.00 | 40 |
| 7 | X | ♂♂ | No | X | √ | √ | √ | 196.49 | 36.83 | 0.00 | 42 |
| 8 | X | ♀♀ | No | X | √ | √ | √ | 195.57 | 35.91 | 0.00 | 42 |
| 9 | X | X | √ | X | √ | Primary only | √ | 182.22 | 22.56 | 0.00 | 14 |
| 10 | X | X | √ | X | √ | √ | A | 165.22 | 5.56 | 0.04 | 29 |
| 11 | X | X | √ | ♀♀ | √ | √ | X | 167.27 | 7.61 | 0.01 | 27 |
| 12 | X | X | √ | Linear trend in ♀♀ | √ | √ | X | 164.58 | 4.92 | 0.05 | 26 |
| 13 | X | X | √ | X | √ | √ | X | 162.16 | 2.50 | 0.19 | 25 |
| 14 | X | X | √ | X | √ | √ | X | 184.15 | 24.4 | 0.00 | 18 |
| 15 | X | X | √ | X | X | √ | X | 159.65 | 0 | 0.68 | 24 |
| 16 | X | X | √ | X | X | X | X | 180.03 | 20.37 | 0.00 | 13 |

TABLE 6.1. Modelling temporal movement, survival and recapture probabilities of Majorcan Midwife toad. AICc= Akaike's information criterion, Δ AICc = difference in AIC value from the model with the lowest AIC. AICcw = AIC weight. Np= number of estimable parameters in the model. The retained model is in bold. R= Random, A=Additive

| Year | Number of CR- occasions | Number of adults | Number of juveniles | Number of tadpoles |
|-------|-------------------------|------------------|---------------------|--------------------|
| 2008 | 3 | 50 | 2 | 1137 |
| 2009 | 4 | 31 | 0 | 971 |
| 2010 | 5 | 51 | 9 | 1333 |
| 2011 | 3 | 35 | 4 | 1414 |
| | | | | 401* |
| Total | 15 | 167 | 15 | 4855 |

TABLE 6.2. Available information at individual and population level. The asterisk represents a winter survey.

Results

Adult survival and population size

The informative goodness of fit test on primary session indicated that a model with time- and sex-dependent parameters explained data adequately ($\chi^2_7=4.91$, $p=0.67$). Such a general model is likely to be over parameterized, but it sets a starting point for the modelling procedure. We assumed no trap-response during the secondary sessions and began with a model including primary and secondary parameters variable over time and sex. This was a more general model than the one used for the goodness of fit test, as it includes data from secondary session (Model 1; Table 1). We reduced the number of parameters describing temporal movements, but the AICc values indicated that the data was consistent with no temporal movements in and out of the study area (Model 6; TABLE 6.1). Similarly, we found no evidence of a sex dependent probability of recapture (Model 6, 10 and 13; TABLE 6.1) but we did retain a variation of it over time (Model 14; TABLE 6.1). Finally, Model 13 suggested a slightly higher survival for males than females, but this difference was not retained (Model 15; TABLE 6.1). The model with the lowest AICc value, Model 15, indicated an annual local survival of 0.728 (95% Confidence Limits: 0.627-0.809), which suggested a lifetime expectancy of about three years after adulthood. Average estimates of males and females were 0.737 (SE=0.042) and 0.726 (SE=0.045), respectively. Average estimates of the derived parameters indicated that the adult population size increased in the first year from 103 toads to 127 and decreased to 84 in 2011. The geometric mean of the three population growth rates was 0.934. The observed dynamic was due mainly to the fluctuations in female number (FIGURE 6.4). The decreased in female number was not mirrored by a similar trend in the survival probability (Model 11-12, TABLE 6.1). The yearly estimates of total adult population sizes were

about three times the observed number of adult toads each year. Indeed, the average probability of recapture per occasion was 0.112 (SE=0.007), which indicated an average value of $p^*=1-(1-0.11^{15/4})=0.36$, per session.

| Parameter | Notation | Value (SE) |
|--|----------------|--------------|
| Average number of tadpoles per male | F | 9.4 (0.894) |
| Proportion of tadpoles that complete the metamorphosis during the first summer | Z | 0.70 (0.012) |
| Survival from tadpole to juvenile | S ^T | 0.01 (0.003) |
| Survival from juvenile to adult | S ^J | 0.18 (0.116) |
| Adult female survival | S ^F | 0.74 (0.042) |
| Adult male survival | S ^M | 0.73 (0.045) |

TABLE 6.3. Demographic parameters of Majorcan Midwife toad.

Midwife toad lifecycle, fertility and juvenile survival

We counted an average of 1213.75 (SE=199.28) tadpoles in the pond each summer (2008=1137, 2009=971, 2010=1333 and 2011=1414). Out of the 1333 tadpoles found in the summer of 2010, 401 (30%) were still present in January 2011. During the study period we found five males carrying eggs. In this population, the average number of fertile eggs carried by a male was 15 (SE=5.29) corresponding to 1.6 clutches (PINYA unpubl. data). From 2009 to 2011, we observed an average of 4.3 juveniles per summer. Assuming that a juvenile has the same detection probability of an adult toad (0.36), we estimate that 12 juveniles were present in the pond each summer (4.3/0.36). This would lead to an average value for the local survival of tadpoles of 0.01 (=12/1213.75; Table 1). Similarly, the survival of juvenile toads was 0.18, calculated as the number of juveniles which have been seen to have reached adulthood during the study (two out of 11). Note that by assuming the same detection for juveniles and adults, these probabilities cancelled each other out.

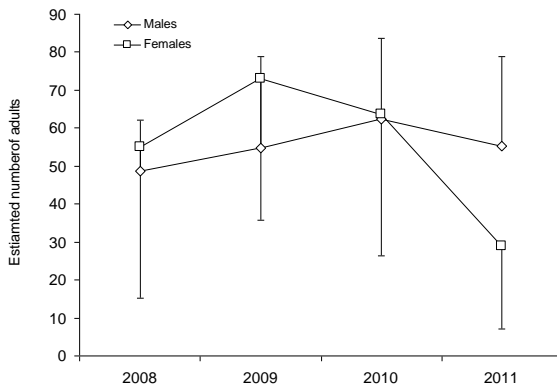


FIGURE 6.4. Averaged estimates of summer adult population size of Majorcan midwife toads as derived parameters from Pollock's robust design models. Bars indicate the 95% confidence interval (only upper and lower intervals are plotted for males and females, respectively).

Midwife toad lifecycle and average male fitness

The deterministic Lefkovich model, which contains the average values of stage-dependent survival and fertility, suggested an average male fitness of 1.005. The value from the stochastic matrices was similar (0.99) with a 95% confidence interval containing 1.00 (95% CI=0.818-1.179). Perturbation analyses indicated that average fitness was influenced mainly by adult survival, which presented an elasticity of 0.79 (FIGURE 6.5). The second most influential parameters were fertility and the probability to leave the tadpole state in the first summer, with elasticity values of 0.21 and 0.20, respectively. A male toad that undergoes the metamorphosis early in life ($Z=1$) would have a fitness 31% higher than a late-metamorphic toad ($Z=0$).

Discussion

In many vertebrates, sexual size dimorphism evolved as a result of sexual selection and the balance between cost and payoffs of parental caring (CLUTTON-BROCK 1988; BENNETT & OWENS 2002). In birds, for example, comparative studies showed that differences in mortality and adult body size were associated with the asymmetric role in parental care (OWENS & BENNETT 1994; OWENS & HARTLEY 1998). We investigated the survival probability in male and female Midwife toad, a species with female-biased size dimorphism and male-biased parental care. Contrary to expectation, we found that mortality in males was not higher than in females.

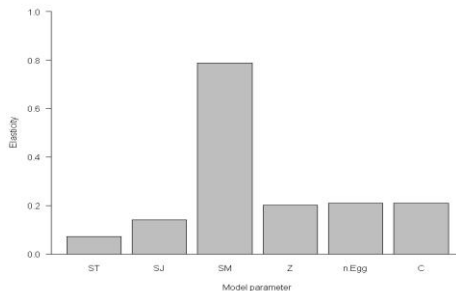


Figure 6.5. Elasticity values of lower-level parameters of male midwife toads' lifecycle

MONNET & CHERRY (2002) found that in anuran species the difference in body size was associated with a difference in the age structure of males and females. In the Majorcan midwife toad, males tend to breed a year earlier than females (PINYA & PÉREZ-MELLADO 2013). However, our capture-recapture analysis suggested that the average lifespan was similar for both sexes as it was estimated in PINYA & PÉREZ-MELLADO (2013). Additionally, the unusual type of parental care rules out the role of sexual competition as the main predictor of sexual size dimorphism, because male fertility is limited by male body size (MARQUEZ ET AL. 2004). The Lefkovich matrix, which describes male lifecycle, suggested an average fitness of male of 1.00. This absolute value must be taken with caution because the model is an extreme simplification of midwife toad lifecycle. For example, a continuous rather than discrete model would have been probably more appropriate. Moreover, juveniles and tadpoles survival was estimated conditionally to recapture and it is likely to be underestimated (SCHMIDT, 2003). Nevertheless, the elasticity values of each parameter are likely to be less biased because they were calculated as proportional changes (CASWELL, 2001). Our results showed an important role of the probability to reach the metamorphosis as soon as possible. Early hatched toads began to breed one year earlier than late-hatched males. This would give an important advantage (31% increase in average fitness) for an early metamorphosis. Despite the fact that this was not the parameter with the highest elasticity, selection for a fast cycle might play an important role in sexual-size dimorphism. In raptors, for example, which show female-biased sexual-size dimorphism, early-hatched birds are mainly male. This skewed sex-ratio is thought to be adaptive as early-born males can breed at their first birthday (GRIGGIO ET AL., 2003). This hypothesis is close to the Arak's model (ARAK, 1988), which predicts a size-dimorphism related to the difference in selective gradient between males and females. However, there is a lack of data for a comparative study of the evolutionary payoff of female and male strategies. Robust estimates of sex-dependent survival in anurans exist only for a small number of species and it is difficult to frame our results. Nevertheless, given the cost of a late metamorphosis, it is striking that 30% of tadpoles still become juvenile after a year. A possible explanation is that the variability of environmental conditions maintains late-metamorphic tadpoles as an insurance of reproductive success, as postulated for other taxa (MOCK & FORBES, 1995).

It appears that annual adult survivorship of several amphibian species is better than 50% and, in some cases, approaches 90% (WELLS, 2007 and references therein). Even if data of annual survivorship is not strictly comparable (because some studies employed simple corrections for the probability of recapture (WELLS, 2007), annual survival for adult Majorcan midwife toads are similar to average values of other anuran species from temperate-zone, as *Rana lessonae* (survival ranging from 0.72 to 0.84, HOLENWEIG, 2001) or *Bufo bufo* (0.77, HEUSSER, 1968). In addition, we found that in *Alytes muletensis* there was no apparent difference between male and female survivorship, which was indeed the case in some populations of anuran species, like those of the genus *Desmognathus* studied by TILLEY (1980), *Rana luteiventris* (TURNER, 1960) or *Rana temporaria* (GIBBONS & MCCARTHY, 1984). Thus, we can conclude that the reproductive investment of adult males carrying clutches, does not result in lower probabilities of survival than those for females. Finally, we found evidence for a low juvenile survival compared to the adult value, possibly due to permanent dispersal. We do not have similar data from any of the neighbouring populations, but it is likely that the mobility of post-metamorphic juveniles could be an adaptation to the metapopulational structure of midwife toad in Majorca. The natural habitat for the species is made by ponds and torrents with highly unpredictable water level (ALCOVER ET AL. 1984; ROMÁN & MAYOL 1997).

Acknowledgements

We would like to thank Joan A. Oliver, M^a Antònia Vanrell and Joan C. Salom of the Balearic Government, who gave us administrative support and provided the capture permits for our study with the Majorcan midwife toad. We are also grateful to all the people who provided support during the fieldwork, especially Xavier Manzano, Jaume Bonnin and Balearik Association. Marta Pérez-Carbonell made a revision of the English language.

References

- ALCOVER J.A., MAYOL J. JAUME D., ALOMAR G. & JURADO J. (1984). Biología i ecologia de les poblacions relictas de *Baleaphryne muletensis* a la muntanya mallorquina. In ALCOVER J.A. & HEMMER H. (Ed.) Història biològica del ferreret. 129-152. Monografies Científiques, 3. Palma de Mallorca: Editorial Moll.
- ARAK A. (1988). Sexual dimorphism in body size: a model and a test. *Evolution*, 42 (4): 820-825.

- BENNETT P. & OWENS I. (2002). Evolutionary ecology of birds. Life-history, mating systems and extinction. Oxford Series in Ecology and Evolution. Oxford University Press.
- BOULENGER G.A. (1897). The tailless batrachians of Europe. London, Royal Society of London.
- BURNHAM K.P. & ANDERSON D.R. (2002). Model selection and multimodel inference: A practical information-theoretic approach. New York: Springer-Verlag.
- BUSH S. (1993). Courtship and male parental care in the Majorcan midwife toad, *Alytes muletensis*. PhD dissertation. University of East Anglia. Norwich, UK.
- CASWELL H. (2000). Prospective and retrospective perturbation analyses: their roles in conservation biology. *Ecology* 81 (3): 619–27.
- CASWELL H. (2001). *Matrix population models (second Edition)*. Sunderland, Massachusetts, USA: Sinauer Press.
- CHOQUET R., REBOULET A.M., LEBRETON J.D., GIMENEZ O., & PRADEL R. (2002). “U_Care2.2”: User’s manual <http://ftp.cefe.cnrs.fr/biom/Soft-CR/>.” CEFE-CNRS.
- CLUTTON-BROCK T.H. (1988). Reproductive success: Studies of individual variations in contrasting breeding systems. Chicago, Illinois, USA: University of Chicago Press.
- CRESPO E.G. (1979). Contribuição para o conhecimento da biologia dos *Alytes* ibéricos, *Alytes obstetricans boscai* Lataste, 1879 e *Alytes cisternasii* Boscá, 1879 (Amphibia-Salientia): A problemática da especiação de *Alytes cisternasii*. PhD dissertation. University of Lisbon, Portugal.
- CRUMP M.L. (1995). Parental care. In: HEATWOLE H. (Ed.) Amphibian biology, vol 2 Social behaviour. Pp: 518-567. Surrey Beatty & Sons, Norton, Australia.
- DUELLMAN W.E. & TRUEB L. (1986). Biology of amphibians. McGraw-Hill Book Co. New York.
- GIBBONS M.M. & MCCARTHY T.K. (1984). Growth, maturation and survival of frogs *Rana temporaria* L. *Holarc. Ecol.*, 7: 419-427.
- GRIGGIO M., HAMERSTROM F., ROSENFELD R.N. & TAVECCHIA G. 2003. Seasonal variation on the sex ratios of fledgling american kestrel: A 30 year study. *The Wilson Bulletin* 114 (4): 474–478.

- HEUSSER H. (1968). Die Lebensweise der Erdkröte, *Bufo bufo* (L.): Wanderungen und Sommerquartiere. *Rev. Suisse Zool.*, 75: 927-982.
- HOLENWEG A.K. (2001). Survival in adults of water frog *Rana lessonae* and its hybridogenetic associate *Rana esculenta*. *Can. J. Zool.* 79: 652-661.
- LEBRETON J.D., BURHNAM K.P., CLOBERT J., & ANDERSON D.R. (1992). Modeling survival and testing biological hypotheses using marked animals: A unified approach with case studies. *Ecological Monographs* 62 (1): 67–118.
- MÁRQUEZ R. (1992). Terrestrial parental care and short breeding seasons: Reproductive phenology of the midwife toads *Alytes obstetricans* and *Alytes cisternasii*. *Ecography*, 15: 279-288.
- MÁRQUEZ R., ESTEBAN M., & CASTANET J. (1997). Sexual size dimorphism and age in the midwife toads *Alytes obstetricans* and *A. cisternasii*. *Journal of Herpetology* 31 (1): 52-59.
- MAXSON, L.R. & SZYMURA, J.M. (1984). Relationships among discoglossid frogs: and albumin perspective. *Amphibia-Reptilia*, 5: 245-249.
- MOCK D.W. & FORBES L.S. (1995). The Evolution of Parental Optimism *Trends in Ecology and Evolution* 10 (3): 130–134.
- MONNET J.M. & CHERRY M.I. (2002). Sexual size dimorphism in anurans. *Proceedings of the Royal Society of Biological Sciences* 269 (1507): 2301–2307.
- OWENS I.P.F. & HARTLEY I.R. (1998). Sexual dimorphism in birds: Why are there so many different forms of dimorphism? *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 265 (1394): 397–407.
- OWENS I.P.F. & BENNETT P.M. (1994). Mortality Costs of Parental Care and Sexual Dimorphism in Birds. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 257 (1348): 1–8.
- PINYA S. (2009). Demografia de la població de ferrerets (*Alytes muletensis*, Sanchíz & Adrover, 1977) de la localitat dels Aljubets (Banyalbufar). In: PINYA, S & VANRELL, M.A. (Eds). I Jornades de Biodiversitat Del Paratge Natural de La Serra de Tramuntana. Ponències I Resums Pp. 49–50. Espais de Natura Balear. Conselleria de Medi Ambient.

- PINYA S. & PÉREZ-MELLADO V. (2009). Individual identification and sexual dimorphism in the endangered balearic midwife toad, *Alytes muletensis* (Sanchíz and Adrover, 1981). *Amphibia-Reptilia* 30: 439–443.
- PINYA S. & PÉREZ-MELLADO V. (2013). Ageing and growth of the endemic midwife toad, *Alytes muletensis*. *Endangered Species Research* 22: 263–268.
- PINYA S. & PÉREZ-MELLADO V. (2014). Clutch size in wild populations of *Alytes muletensis*. *Acta Herpetologica*, 9 (1): 115-117.
- PINYA S., PÉREZ-MELLADO V. & SUÁREZ-FERNÁNDEZ J.J. (2012). First records of limb malformations in wild populations of the endangered balearic midwife toad, *Alytes muletensis*. *Herpetological Review* 43 (2): 240–243.
- POLLOCK K.H., NICHOLS J.D., BROWNIE C., & HINES J.E. (1992). Statistical inference for capture-recapture experiments. *Wildlife Monographs* 107: 1–97.
- READING C. & CLARKE R.T. (1988). Multiple clutches egg mortality and mate choice in midwife toad *Alytes obstetricans*. *Amphibia-Reptilia*, 9: 357-364.
- ROFF D.A. (1992). The evolution of life histories. Theory and analysis. New York: Chapman & Hall.
- ROMÁN A. & MAYOL J. (1997). La recuperació del ferreret. Documents tècnics de conservació 1. Palma de Mallorca: Conselleria de Medi Ambient, Ordenació del Territori i Litoral.
- SCHMIDT B.R. (2003). Count data, detection probabilities, and the demography, dynamics, distribution, and decline of amphibians. *Comptes Rendus Biologies* 326, Supplement 1 (August): 119–124.
- TAVECCHIA G., MINGUEZ E., DE LEON A., LOUZA M., & ORO D. (2008). Living close, doing differently: Small-scale asynchrony in demographic parameters in two species of seabirds. *Ecology* 89 (1): 77–85.
- TILLEY S.G. (1980). Life histories and comparative demography of two salamander populations. *Copeia*, 1980: 806-821.

- TURNER F.B. (1960). Population structure and dynamics of the western spotted frog, *Rana p.pretiosa* Baird & Ginard in Yellowstone Park, Wyoming. *Ecol. Monogr.*, 30: 251-278.
- VAN TIENDEREN P.H. (2000). Elasticities and the link between demographic and evolutionary dynamics. *Ecology* 81 (3): 666–679.
- WELLS K.D. (2007). The ecology and behaviour of amphibians. The University of Chicago Press, Chicago.
- WHITE G.C. & BURHNAM K.P. (1999). Program MARK: Survival estimation from populations of marked animals. *Bird Study* 46 (Supplement): 120–138.



CAPÍTULO VII
RELACIÓN CON OTRAS ESPECIES

Breeding disturbance of an endemic amphibian by an introduced snake.

Abstract

Invasions of alien species have been one of the most important forces altering both, biotic and abiotic factors of insular ecosystems. In the case of Mallorca, the Viperine snake, *Natrix maura*, was apparently the main cause of rarefaction or extinction of several populations of the Majorcan midwife toad, *Alytes muletensis*. Several studies showed the aversive responses of the tadpoles in the presence of *N. maura*, but the effect of viperine snakes on adult toads was still uncertain. In this work we present two cases in free-living populations which suggest how *N.maura* could drive to almost the complete extinction of *A. muletensis*, causing a disruption of adult breeding activity.

Key words

Alytes muletensis, *Natrix maura*, breeding disturbance, extinction, small population.

The introduction of species, together with the loss and alteration of habitats, is one of the main threats to biodiversity, causing population decline and local extinctions of several species (WILSON, 1992; WILCOVE ET AL., 1998; LOWE ET AL., 2000). Consequently, the invasion of alien species have been one of the most important forces in terms of the alteration of biotic processes in insular ecosystems (LOOPE & MUELLER-DOMBOIS, 1989; FRITTS AND RODDA, 1998).

The introduction of alien snakes may affect the survival of native species (SAVIDGE 1987; RODDA & FRITTS 1992; FRITTS & RODDA 1998; MARTINEZ-MORALES & CUARÓN 1999). In the case of Mallorca (Balearic Islands, Spain), the Viperine snake, *Natrix maura*, was introduced during Roman times (VIVES ET AL., 1987), from Southeastern France (GUICKING ET AL., 2006). Its occurrence, along with other predators of a lower impact was, apparently, the main cause of the rarefaction and extinction of the vast majority of populations of the Majorcan midwife toad, *Alytes muletensis* (ROMÁN & MAYOL, 1997), surviving only in those localities where this predator was unable to access (MOORE ET AL., 2004).

Under the first Recovery Plan of *A. muletensis*, numerous populations were created (ROMÁN & MAYOL, 1997). Among them, the first locality studied in this work (XIX.B.2). It is the southernmost locality of the present day distribution of the species, and it is located at 370 m.a.s.l. It was created in 1997 with 93 captive-breed adults and reinforced in 1998 with 11 larvae (BALEARIC GOVERNMENT, unpub data). The breeding point of this locality is an artificial trough for livestock of 6 m² of surface and 4.8 m³ of water volume constant throughout the year as fed by a water pump. Adults come every year to breed there from April to September, living the rest of the year in shelters found in stone walls of a terrace, ten meters apart from the trough.

Since its creation, and on an annual basis, the EBA monitored the larval population of this locality (FIGURE 6.1), counting tadpoles in July (ROMÁN & MAYOL, 1997). The maximum of tadpoles ever counted was 628 in 2007. Thus, compared with the remaining localities of the species, it is considered a small population (BALEARIC GOVERNMENT, unpub. data). On the other hand, from 2005 to 2009, and on a weekly basis from May to September, we carried out a monitoring of the adult fraction of the population, (FIGURE 6.2). We captured and identified all adult toads employing a photoidentification technique (PINYA & PÉREZ-MELLADO, 2009). The average age of adult toads from this population, estimated according to PINYA & PÉREZ-MELLADO (2013), was 2.41 ± 1.31 years.

This locality was considered a population free of *N. maura* from 1997 to 2006 (BALEARIC GOVERNMENT, unpub. data). The nearest known presence of this snake was in a reservoir located at the same river basin, 650 m.a.s.l. and in a straight-line distance of 1450 m. to the North. Thus, with such a descent profile, it is relatively easy for *N. maura* to reach a new locality at a lower level, within the same stream basin, because of its capacity of colonization (SANTOS & LLORENTE, 1997; RUGIERO ET AL., 2000).

On 6 August 2007, a juvenile *N. maura* (30 cm from head to tail) was captured at the locality under study, and on 30 April 2008 an adult female of 74 cm. Both specimens remained at the locality a maximum of a week until they were detected, and then were removed and relocated several miles away from the breeding point of *A. muletensis*. After the capture of snakes, no specimens of *A. muletensis* were detected in the breeding area for the next two years but nineteen individuals captured in April 2008, and isolated individuals were observed during that time (see FIGURE 7.2c,d). At the same time, the number of larvae observed in the

pool decreased gradually, reaching their lowest number in 2012, with no larvae observed during the survey of this year, and the next (FIGURE 7.1).

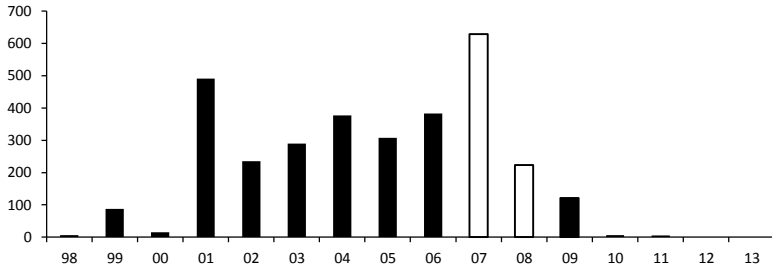


FIGURE 7.1. Tadpole censuses of *A. muletensis* during the period 1998-2013 in the locality XIX.B.2. White bars indicate the years where *N. maura* were detected.

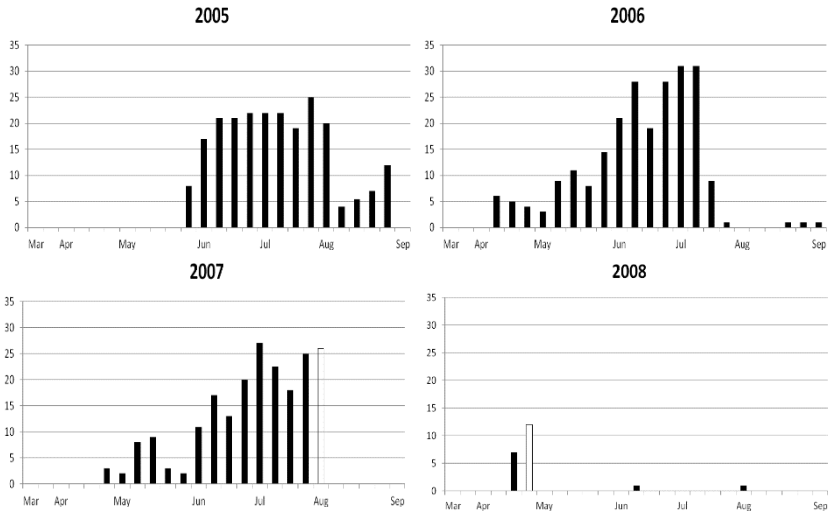


FIGURE 7.2. Evolution of weekly captures of adults during the period 2005-2008. White bars indicate the years where *N. maura* were detected.

A second case of the effect of *N. maura* on adult breeding behaviour of *A. muletensis* was observed, at the locality 4.A, an originally natural population, where the EBA monitored the tadpole population size since 1991 (FIGURE 7.3, ROMÁN & MAYOL, 1997). This locality is larger than the locality XIX.B.2, since its maximum tadpole population recorded in eight different breeding points together was 3.034 individuals during 1993. Simultaneously, during 22 years (1991-2012), the Balearic Government removed 36 individuals of *N. maura* from this locality, s one of the main actions in the Recovery Plan of *A. muletensis* (Fig. 7.3). The evolution of

tadpole populations during this period showed a negative correlation between the number of individuals of *N. maura* removed and the tadpole population size (Spearman rank correlation, $\rho=-0.45$). Particularly during the period 1999-2007, a significant reduction of tadpole population took place, reaching its lowest population record of 180 tadpoles in 2002. It is quite illustrative the sharp reduction of the population during the years 1998-2002, when 25 individuals *N. maura* were removed.

Tadpoles are able to innately recognize and respond to coexisting native predators (KATS ET AL., 1988; SIH & KATS, 1994; KIESECHER & BLAUSTEIN, 1997). In larval amphibians these responses are basically changes in life history, morphology or behavior (SKELLY & WERNER, 1990; LARDNER, 2000). Antipredatory behaviour may include the reduction of activity levels, alterations in the use of different microhabitats or an increased use of shelters (KATS ET AL., 1988; SKELLY & WERNER, 1990; KIESECHER ET AL., 1996; KIESECHER & BLAUSTEIN, 1997; RICHTER-BOIX ET AL., 2007).

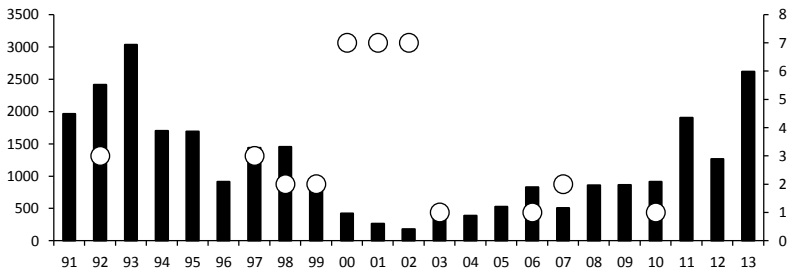


FIGURE 7.3. Tadpole censuses of *A. muletensis* (left Y axis) during the period 1991-2013 in the locality 4.A. Number of *N. maura* removed (right Y axis) during the Recovery Plan works showed as white spots (see more details in the text)

A. muletensis has a legacy behavior recognition from predators, detecting and identifying the chemical signals from the viperine snake, in its larval form, reducing its activity and blending with the environment (GRIFFITHS ET AL., 1998). The Majorcan midwife toad shows also a morphological response known as Laurel and Hardy effect (KRAAIJEVELD-SMIT ET AL., 2006), also in postmetamorphic individuals (SCHLEY & GRIFFITHS, 1998), avoiding contact with a substrate where *N. maura* has previously been present. But the response of adults in front of *N. maura* still remains uncertain.

It is unknown the true impact of the arrival of *N. maura* on the adult toads of a given population (HEMMER & ALCOVER, 1984; ROMÁN & MAYOL, 1997 and references therein). Our data from locality XIX.B.2 suggest that during a minimum of two consecutive seasons, an

interruption of breeding activity took place, according to the low number of adults found and the progressive reduction of tadpoles from 2007 to the lowest value in 2012 and 2013. An alteration in the use of breeding habitats or a higher use of shelters outside the water, as antipredatory behaviors, may have occurred (KATS ET AL., 1988; SKELLY & WERNER, 1990; KIESECHER ET AL., 1996; KIESECHER & BLAUSTEIN, 1997; RICHTER-BOIX ET AL., 2007).

Moreover, data from locality 4.A, also shows a reduction of tadpole population as a consequence of the arrival of *N. maura*, but its consequence is less important in relation to population XIX.B.2, because of a higher population size and the existence of multiple breeding points in the same locality.

The description of these observations, allows us to illustrate the potential effects of alien predators, which can drive a population close to extinction. In a short-lived species, such *A. muletensis*, and in young populations, the deep disturbance of reproduction during a breeding season, or so, may result in the extinction of a small and isolated population. On the other hand, in a larger population, the presence of various breeding points would minimize the effects of *N. maura*, but it would reduce the population size too.

In future conservation actions, as the creation of new populations of *A. muletensis*, the distance to the nearest known population of *N. maura* and its occurrence in the same watershed should be taken into account, because it is the main threat agent of introduced and natural populations of this endemic amphibian species.

Acknowledgements

We thank the owners of the property at the locality XIX.B.2 that allowed us to do our monitoring work. Our acknowledgement to Joan Antoni Oliver Valls and M^a Antònia Vanrell, from the Balearic Environmental Agency, for their support and for providing the historical data of locality 4.A of tadpole monitoring and captures of *N. maura*. During the fieldwork any animal was injured or damaged. All captured animals were immediately released in the same location of capture, with the exception of the snakes, that were released in different localities.

References

- FRITTS T.H. & RODDA G.H. (1998) The role of introduced species in the degradation of island ecosystems: a case history of Guam. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 29: 113-140.
- GRIFFITHS R.A., SCHLEY L. SHARP P.E., DENNIS J.L. & ROMÁN A. (1998) Behavioural responses of Mallorcan midwife toad tadpoles to natural and unnatural snake predators. *Animal Behaviour* 55: 207-214.
- GUICKING D., GRIFFITHS R.A., MOORE R., JOGER U. & WINK M. (2006) Introduced alien or persecuted native? Resolving the origin of the viperine snake (*Natrix maura*) on Mallorca. *Biodiversity and Conservation* 15: 3045-3054.
- HEMMER H. & ALCOVER J.A. (1984) Life history of the Mallorcan Midwife Toad. Monografies Científiques 3. Palma, Editorial Moll.
- KATS L.B., PETRANKA J.W. & SIH A. (1988) Antipredator defenses and the persistence of amphibian larvae with fishes. *Ecology* 69: 1865-1870.
- KIESECHER J.M. & BLAUSTEIN A.R. (1997) Population differences in responses of red-legged frogs (*Rana aurora*) to introduced bullfrog. *Ecology* 78: 1752-1760.
- KIESECHER J.M., CHIVERS D.P. & BLAUSTEIN A.R. (1996) The use of chemical cues in predator recognition by western toad tadpoles. *Animal Behaviour* 52: 1237-1245.
- KRAAIJEVELD-SMIT F.J.L., GRIFFITHS R.A., MOORE R.D. & BEEBEE T.J.C. (2006) Captive breeding and the fitness of reintroduced species: a test of the responses to predators in a threatened amphibian. *Journal of Applied Ecology* 43: 360-365.
- LARDER B. (2000) Morphological and life history responses to predators in larvae of seven anurans. *Oikos* 88: 169-180.
- LOOPE L.L. & MUELLER-DOMBOIS D. (1989) Characteristics of invaded islands, with special reference to Hawaii. In: *Biological invasions: a global perspective*, p. 257-280.
- DRAKE J.A., MOONEY H.A., DI CASTRI F., GROVES R.H., KRUGER F.J., REJMANEK M. & WILLIAMSON M. (Eds.) New York, John Wiley and Sons.
- LOWE S., BROWNE M., BOUDJELAS S. & DE POORTER M. (2000) 100 of the World's Worst Invasive Alien Species, A selection from the Global Invasive Species Database. Invasive Species Specialist Group (ISSG) from the World Conservation Union (IUCN).

- MARTINEZ-MORALES M.A. & CUARÓN A. D. (1999) *Boa constrictor*, an introduced predator threatening the endemic fauna on Cozumel Island, Mexico. *Biodiversity and Conservation* 8: 957-993.
- MOORE R.D., GRIFFITHS R.A. & ROMÁN, A. (2004) Distribution of the Mallorcan midwife toad (*Alytes muletensis*) in relation to landscape topography and introduced predators. *Biological Conservation* 116: 327-332.
- PINYA S. & PÉREZ-MELLADO V. (2009) Individual identification and sexual dimorphism in the endangered Balearic midwife toad, *Alytes muletensis* (Sanchíz & Adrover, 1981). *Amphibia-Reptilia* 30: 439-443.
- PINYA S. & PÉREZ-MELLADO V. (2013) Ageing and growth of endemic midwife toad, *Alytes muletensis*. *Endangered Species Research* 22: 263-268.
- RICHTER-BOIX A, LLORENTE G.A. & MONTORI A. (2007) A comparative study of predator-induced phenotype in tadpoles across a pond permanency gradient. *Hydrobiologia* 583: 43-56.
- RODDA G.H. & FRITTS T.H. (1992) The impact of the introduction of the colubrid snake *Boiga irregularis* on Guam lizards. *Journal of Herpetology* 26: 166-174.
- ROMÁN A. & MAYOL J. (1997) La recuperación del ferreret, *Alytes muletensis*. Documents tècnics de Conservació 1. Palma de Mallorca: Conselleria de Medi Ambient, Ordenació del Territori i Litoral.
- RUGIERO L., CAPULA M., PERSICETTI D., LUISELLI L. & ANGELICI F.M. (2000) Life-history and diet of two populations of *Natrix maura* (Reptilia, Colubridae) from contrasted habitats in Sardinia. *Miscellanea Zoológica* 23: 41-51.
- SANTOS X & LLORENTE G.A. (1997) Actividad de *Natrix maura* en el Delta del Ebro, analizada mediante técnicas de telemetría. *Revista Española de Herpetología* 11: 63-70.
- SAVIDGE J.A. (1987) Extinction of an island forest avifauna by an introduced snake. *Ecology* 68: 660-668.
- SCHLEY L. & GRIFFITHS R.A. (1998) Midwife toads (*Alytes muletensis*) avoid chemical cues from snakes (*Natrix maura*). *Journal of Herpetology* 32: 572-574.

- SIH A. & KATS L.B. (1994) Age, experience, and the response of streamside salamander hatchlings to chemical cues from predatory sunfish. *Ethology* 96: 253-259.
- SKELLY D.K. & WERNER E.E. (1990) Behavioral and live-historical responses of larval American toads to an odonate predator. *Ecology* 71: 2313-2322.
- VIVES M.V., ALCOVER J.A. & MARTÍNEZ-RICA J.P. (1987): Rèptils. In: Amfibis, Rèptils i Mamífers, p. 97-202. GONSÁLBEZ J. (Ed.). Barcelona, Enciclopèdia Catalana SA.
- WILCOVE D.S., ROTHSTEIN D., DUBOW J., PHILLIPS A. & LOSOS E. (1998) Quantifying threats to imperiled species in the United States. *BioScience* 48: 607-615.
- WILSON E.O. (1992) *The Diversity of Life*. Cambridge (MA), Belknap Press.



CAPÍTULO VIII
DISCUSIÓN GENERAL

8. DISCUSIÓN GENERAL

8.1. Identificación individual

La identificación individual de los ejemplares de una población, así como la determinación del sexo de cada uno de ellos es clave para el estudio y comprensión de la estructura y dinámica poblacional de una especie. Varios sistemas de identificación se han empleado en diferentes grupos zoológicos tales como la utilización de microchips, de anillas (COTTAM 1956), la realización de muescas (ANDREU ET AL., 2000), la colocación de collares (CALVO & FURNESS 1992) o la amputación de falanges en los dedos (SUTHERLAND 1996), así como muchos otros (SILVY ET AL., 2005). Si bien, no todos ellos son igualmente recomendables y, de hecho, algunos de ellos ya se encuentran en desuso debido al efecto sobre la supervivencia de los individuos que conforman la población objeto de estudio (MURRAY & FULLER 2000).

En algunas especies de vertebrados el patrón de coloración es una herramienta de reconocimiento individual de los miembros de una población, y estos patrones son similares a las huellas digitales humanas (DONNELLY ET AL. 1994). En varias especies de anfibios como *Bombina bombina*, *Bufo calamita*, *Mesotriton alpestris* o *Lissotriton helveticus* (MEYER & GROSSE 1997; STREICH ET AL. 1997; WINKLER & HEUNISCH 1997) los patrones de coloración dorsal o ventral son empleados como herramienta de identificación individual. De la misma manera, el patrón de coloración encontrado en *Alytes muletensis* permite un reconocimiento individual de los miembros de una población (Capítulo 3; PINYA & PÉREZ-MELLADO 2009) y contribuye a asentar una base metodológica para el conocimiento de la fracción adulta aplicado a la gestión para la conservación.

8.2. Morfología

Hasta la realización de esta tesis doctoral el sexo de *A. muletensis* era determinado en función de si los machos cargaban las puestas de huevos o si a la hembras grávidas se les transparentaba la masa de huevos a través de la poco pigmentada piel de la región abdominal (MAYOL ET AL. 1984). Así, en aquellos animales que se encontraban fuera de estas condiciones, no se podía determinar el sexo. Sin embargo, otras especies de sapos parteros como *Alytes obstetricans* y *Alytes cisternasii* presentan un dimorfismo sexual en cuanto a la morfología entre sexos. Este hecho permite una comparación de las características morfológicas y la

construcción de funciones discriminantes para la identificación sexual de adultos (BOSCH & MÁRQUEZ 1996).

Después de analizar 14 variables morfológicas (TABLA 3.1) se ha podido comprobar que las hembras de *A. muletensis* son significativamente más grandes que los machos, del mismo modo que en *A. obstetricans* o *A. cisternasii* (BOSCH & MÁRQUEZ 1996) y en la mayoría de anuros (SHINE 1979).

Además, los machos presentan un diámetro timpánico significativamente mayor que en las hembras. *A. muletensis* produce llamadas de aviso durante la temporada de reproducción (BUSH 1997) y las hembras sólo cantan cuando están en un estado avanzado de gravidez o en riesgo de pérdida de la masa de huevos. Sus llamadas son más cortas y se producen a una intensidad más baja que las de los machos (BUSH & DELL 1997). La diferencia de tamaño del diámetro timpánico podría estar relacionada con la intensidad de los cantos. En este sentido los machos podrían detectar más fácilmente los cantos emitidos a una baja intensidad por las hembras, al tener una superficie de recepción auditiva mayor.

El análisis de las variables morfológicas estudiadas en *A. muletensis* y su comparación entre sexos ha facilitado la creación de funciones de clasificación que permiten la discriminación sexual. El éxito de una correcta clasificación es del 100 %, un porcentaje superior al registrado en otros *Alytes*, 95 % en *A. obstetricans* y 97,56 % en *A. cisternasii* (BOSCH & MÁRQUEZ 1996), aunque para estas especies las funciones eran realizadas únicamente con cuatro variables en *A. obstetricans* y cinco variables en *A. cisternasii*. Las funciones discriminantes para la determinación del sexo, combinadas con la identificación individual del patrón de coloración, resultan herramientas clave para el incremento del conocimiento sobre los parámetros demográficos, como se ha demostrado a lo largo de la presente tesis y concretamente su posterior aplicación en el primer modelo demográfico de la especie (ver Capítulos 4-6 para su aplicación).

Paralelamente, se sabe que la longitud corporal de los anfibios está relacionada con la edad y con la densidad de población (BERGER 1973A; BERGER 1973B; DENTON & BEEBEE 1993) y con la disponibilidad de alimento (DUNHAM 1978). Por otra parte, la condición corporal es considerada para la mayoría de anuros como un indicador de la reserva energética almacenada, comparada con los componentes estructurales del cuerpo (GREEN 2001). Ambos parámetros, longitud y condición corporal, nos pueden dar una idea fiable del estado de salud

de una determinada población de anfibios. Además, el tamaño y condición corporal están directamente influenciados por condiciones ambientales como la presión de depredación o la disponibilidad de alimento (DUNHAM 1978; BRÖNMARK & MINER 1992; MADSEN & SHINE 2002; BLUMESHINE ET AL., 2000). Así, aquellos individuos más grandes y con una mayor condición corporal, se deberían encontrar en los hábitats más adecuados para la especie, con una menor presión de depredación y una mayor disponibilidad de alimento.

8.3. El hábitat óptimo

Se puede considerar que el hábitat óptimo para una especie sería el área que contiene las condiciones, tanto bióticas como abióticas, óptimas para dicha especie. Esto es, dónde la especie puede vivir y reproducirse con éxito, por encima del promedio de éxito reproductor, del resto de áreas del área de ocupación de la especie. Una definición complementaria podría ser que el hábitat óptimo es aquél en el que cada uno de los parámetros bióticos y abióticos están en los valores centrales de un determinado rango (SÁNCHEZ-PALOMARES ET AL., 2004). Actualmente, las condiciones bióticas y abióticas del hábitat de *A. muletensis* son altamente variables, en comparación con las pocas localidades que había cuando fue descubierta la especie. Hay que tener en cuenta que durante los trabajos de gestión de la especie, varias poblaciones fueron creadas (ROMÁN & MAYOL 1995), todas ellas bien diferentes en términos de características del hábitat y albergando poblaciones con una gran amplitud de abundancia y estado de conservación.

Los datos obtenidos muestran que los individuos de *A. muletensis* procedentes de hábitats artificiales son más grandes y tienen una condición corporal superior que aquéllos procedentes de hábitats naturales. Para un adulto, los hábitats artificiales presentan ventajas frente a los hábitats naturales porque tienen menores elementos de estrés que éstos. Este hecho contribuiría a incrementar las probabilidades de supervivencia y, combinado con una supuesta mayor disponibilidad de alimento y un menor gasto energético, favorecería la presencia de adultos más grandes y con una mejor condición corporal, en comparación con los hábitats naturales.

Además, los datos aportados en el capítulo 4 sugieren que los individuos introducidos en hábitats artificiales sufrieron un cambio en el tamaño corporal, en un período de 9-16 años. Este cambio, en un periodo tan corto, puede ser considerado como un cambio morfológico ultrarrápido, el cual se ha documentado en otras especies (HUEY ET AL. 2000; SASAKI ET AL.,

2008). Las variaciones en parámetros de historia natural entre poblaciones de la misma especie son a menudo explicadas por variaciones en la calidad del hábitat o el clima (HASTINGS 1997) y, en el caso del tamaño corporal, también están influidas y varían de acuerdo a los factores ambientales (GUTHRIE 2003; MOORE ET AL., 2004). Además, en anfibios la edad reproductora, la longevidad, la edad máxima potencial de reproducción y la relación edad-talla, consistentemente varían entre poblaciones en respuesta a factores ambientales (MORRISON & HERO 2003; SINSCH ET AL. 2007). Así, las diferencias y similitudes en el tamaño corporal de *A. muletensis* procedentes de poblaciones introducidas, en relación con su población fundadora, podrían ser debidas a diferencias en las características del hábitat, que modulan y pueden ejercer presiones selectivas sobre estos parámetros. Por lo tanto, el cambio morfológico ultrarrápido de *A. muletensis* de hábitats naturales a artificiales podría responder a unas mejores condiciones para los individuos, en el sentido de que los adultos pueden invertir en crecer e incrementar su condición corporal, en lugar de gastar energía enfrentándose a las amenazas de los hábitats naturales.

Desde el punto de vista de su conservación, el hábitat óptimo de una especie insular y amenazada es el hábitat donde los depredadores tienen dificultades de acceso o tienen condiciones inadecuadas para vivir (ALCOVER ET AL. 1984; LÓPEZ-JURADO ET AL., 1999). Debemos recordar que en la mayoría de los casos, estos depredadores fueron introducidos por los humanos. Así, la situación actual es claramente diferente a la situación de ausencia de depredadores previa a la llegada de los humanos a las islas y en consecuencia el hábitat óptimo de entonces probablemente sería diferente.

Los depredadores o competidores pueden afectar al comportamiento de la presa, forzándola a alimentarse o reproducirse en hábitats subóptimos (MOORE ET AL., 2004; PÉREZ-TRIS ET AL., 2004; ACEVEDO ET AL., 2007). En este sentido, pueden afectar al tamaño y condición corporal de las presas (MCDONALD ET AL., 1992; MOORE ET AL., 2004). La introducción de *Natrix maura* en época romana fue determinante para la actual situación y estatus de *Alytes muletensis* (GUICKIN ET AL. 2006). Este colúbrido causó probablemente la extinción de la mayoría de las poblaciones, con la excepción de aquéllas situadas en cañones cársticos (MOORE ET AL., 2004). Un caso muy similar ocurrió en las Islas Canarias, con la introducción de gatos asilvestrados y otros mamíferos, los cuales afectaron a la actual distribución de los lagartos insulares endémicos *Gallotia simonyi* y *G. gomerae*, restringiéndolos a hábitats subóptimos en acantilados apenas accesibles (PÉREZ-MELLADO ET AL., 1999; MATEO, 2007).

En este sentido, individuos más grandes y con una mejor condición corporal, junto a un cambio morfológico ultrarrápido, fueron observados en hábitats artificiales, revelando que *A. muletensis* podría vivir mejor en aquellos hábitats supuestamente atípicos. Los hábitats artificiales de *A. muletensis* son claramente más adecuados e incluso hábitats óptimos desde el punto de vista del individuo, como demuestran los valores de tamaño y condición corporal. Sin embargo, desde una perspectiva de la población, los hábitats artificiales normalmente mantienen stocks poblacionales menores. Así, en el caso de la llegada de un depredador foráneo, el riesgo de colapso poblacional es más elevado. Por ello, la idoneidad de estos hábitats artificiales no es completa. Por otra parte, los hábitats naturales tienen individuos más pequeños con una condición corporal menor, pero normalmente tiene mayores stocks poblacionales, permitiendo encarar la presión de depredación con mayores probabilidades de supervivencia. Consecuentemente, hay que tener en cuenta un equilibrio entre las condiciones óptimas para los individuos y las de las poblaciones a la hora de planificar las acciones de conservación, tales como la selección de nuevas localidades para la creación de nuevos puntos de reproducción.

8.4. Malformaciones

A lo largo del periodo 2006-2011 en la localidad 15A, un total de 306 individuos fueron capturados. De todos ellos, cuatro individuos tenían una o más malformaciones, con un total de 5 tipos diferentes: polimelia, micromelia, braquidactilia, sindactilia y proyección ósea. La tasa global de malformación fue del 1.31 %, pero fue mayor cuando cada ocasión de muestreo fue tratada de forma separada: 3.03-5.45 %.

A pesar de no haber registros previos de malformaciones en *A. muletensis*, nuestras observaciones no revelaron ninguna causa segura. Debido al estatus de protección de *A. muletensis*, no fue posible sacrificar individuos para analizar la presencia de quistes metacercariales de trematodos (por ejemplo del género *Ribeiroia*), la causa más comúnmente citada para este tipo de malformaciones de las extremidades (JOHNSON & PAULL 2011). Sin embargo, este parásito no ha sido documentado en las poblaciones naturales de *A. muletensis*, en los estudios previos realizados sobre carga parasitaria de muestras fecales (ROCA ET AL. 1998, 2004). Aunque, *Ribeiroia* spp. podría estar presente en la zona de estudio. Por otra parte, aunque no se ha documentado que *B. dendrobatidis* sea una causa directa de

malformaciones en anfibios adultos (VREDENBURG & SUMMERS 2001; ALTIG 2007; FELLERS ET AL. 2007), puede actuar de manera sinérgica con patógenos del género *Ribeiroia* causando malformaciones (ROMANSIC ET AL. 2011). Además, una posible depresión del sistema inmune de los renacuajos causada por factores ambientales como la contaminación, la radiación ultravioleta o incluso la presencia de *B. dendrobatidis* (PARRIS & TOMMIE 2004), puede provocar un incremento de la susceptibilidad de afectación por parásitos como *Ribeiroia ondatrae* y, consecuentemente, incrementar la presencia de malformaciones (JOHNSON ET AL. 1999, 2002).

Es posible que las anomalías observadas surgieran por mutación, fallos en el desarrollo, o eventos traumáticos, aunque estos casos mayoritariamente implican una pérdida de dígitos o partes de las extremidades (Blaustein & Johnson 2003). El descubrimiento de una concentración de anomalías graves, con partes de las extremidades adicionales, plantea la cuestión de las causas y si estas malformaciones son debidas a factores que podrían ser considerados una amenaza para una especie tan sensible.

8.5. Edad y crecimiento

Los principales factores demográficos que afectan a la dinámica de una población incluyen la estructura social y las variaciones de sobre los parámetros de historia natural (LANDE 1988). El trabajo realizado en esta tesis estuvo centrado en la obtención de parámetros demográficos clásicos como la longevidad media y máxima, las curvas de crecimiento, las tasas de crecimiento y la edad de madurez sexual en poblaciones silvestres de *A. muletensis*.

Como ocurre en varios anfibios, los datos muestran una relación positiva entre la longitud corporal (SVL) y la edad (MIAUD ET AL. 1999; YILMAZ ET AL. 2005; MA & LU 2009). Hemos observado diferencias entre la longevidad media entre sexos, con un sesgo hacia las hembras de mayor edad, mientras que la longevidad máxima era similar entre los sexos. La longevidad media observada fue mayor cuando la comparábamos con la obtenida para las hembras de *Alytes obstetricans* y *A. cisternasii* (3.68 y 3.15 años, respectivamente, MÁRQUEZ ET AL 1997), así como también fue mayor en el caso de los machos de las mismas especies (2.34 y 2.43 años, respectivamente, MÁRQUEZ ET AL 1997). En general, muchos estudios de anfibios han determinado que cuando existen diferencias de longevidad entre sexos, las hembras viven más que los machos (ver CHERRY & FRANCILLON-VIEILLOT 1992). Otras especies cercanas taxonómicamente, como *Discoglossus galganoi*, tienen valores similares de longevidad media (4 años, ESTEBAN ET AL. 1998).

En *A. muletensis*, la edad de madurez sexual varía entre 1 y 2 años, y en ambos sexos son potencialmente capaces de reproducirse en la primera estación como adultos después de la metamorfosis, como ocurre en otras especies de anfibios (GUARINO ET AL. 2003). Sin embargo, la edad de madurez sexual está retrasada en especies cercanas como *Discoglossus pictus* (4 años; KNOEPFFLER 1962).

La longevidad máxima estimada fue de 18 años para ambos sexos, pero este valor debe considerarse excepcional, dado que la mayoría de los ejemplares capturados (90 %) no tenían más de 6 (machos) o 9 años (hembras). De hecho, el valor máximo estimado es el mayor registrado para el género *Alytes* (BÖLLET ET AL. 1997; MÁRQUEZ ET AL. 1997; GONZÁLEZ-MIRAS ET AL. 2012) pero, sin embargo, es similar a los valores registrados para el género cercano *Bombina*, con un máximo de longevidad registrada de 20 años (PLYTYCZ & BIGAJ 1984).

Valores mayores de longevidad en hembras han sido previamente registrados para algunas especies de anuros (CHERRY & FRANCILLON-VIEILLOT 1992; LECLAIR & LAURIN 1996; GUARINO ET AL. 2011), y este resultado es generalmente interpretado como consecuencia de una madurez sexual retrasada (KYRIAKOPOULOU-SKAVOUNOU ET AL. 2008) o una menor presión de depredación para hembras (CHERRY & FRANCILLON-VIEILLOT 1992). En el caso de *A. muletensis*, la primera interpretación es plausible porque la edad de madurez sexual es más alta en hembras que en machos. Mientras que la asunción que, los machos adultos de *A. muletensis* deberían tener una mayor mortalidad debido a la depredación no está del todo estudiado y por tanto de momento no es asumible.

El crecimiento de anfibios, y los datos presentados de *A. muletensis* encajan correctamente con el modelo Von Bertalanffy, indicando que la edad y la tasa de crecimiento operan aditivamente para determinar el tamaño corporal de los individuos de anfibios (MA & LU 2009). El dimorfismo sexual por tamaño depende de la importancia relativa de la edad y la tasa de crecimiento en ambos sexos (MA & LU 2009).

Las hembras muestran una mayor tasa de crecimiento y una mayor edad media que los machos, pero una esperanza de vida máxima similar. Una combinación de estas variables está frecuentemente relacionada con un retraso en la reproducción de las hembras (HALLIDAY & TEJEDO 1995; MONNET & CHERRY 2002), con hembras llegando a la madurez a una edad mayor que los machos, como ocurre con nuestros datos de *A. muletensis*. Este dimorfismo sexual

por la edad ha sido frecuentemente descrito entre los anuros y es, en general, el resultado de diferencias en las tasas de crecimiento (MA & LU 2009 y referencias citadas).

8.6. Tamaño de puesta

Nuestros datos revelan un tamaño de puesta de 12.04 huevos en poblaciones silvestres. Comparando estos valores con el promedio publicado previamente procedente de poblaciones silvestres (ALCOVER ET AL. 1984), no encontramos diferencias significativas. La falta de diferencias estadísticamente significativas podría ser explicada por el pequeño tamaño de muestra analizado por ALCOVER ET AL. (1984). Las comparaciones de tamaño de puesta procedentes de individuos cautivos (BUSH 1996) con el tamaño de puesta de individuos silvestres reveló que tampoco había diferencias. Así mismo, no se encontraron diferencias significativas entre las puestas procedentes de poblaciones silvestres naturales y artificiales.

El rango de tamaño de puesta encontrado en este estudio, es el más amplio conocido, tanto para poblaciones silvestres como cautivas, y encaja con los valores mínimos y máximos previamente publicados (ALCOVER ET AL. 1984; BUSH 1996; ROMÁN & MAYOL 1997).

Las puestas múltiples son comunes en poblaciones naturales de sapos parteros continentales (BUSH 1996). Entre un 56 y 61 % de los machos de *A. obstetricans* y el 80 % en *A. cisternasii* portan dos o más puestas simultáneamente (READING & CLARKE 1988; MÁRQUEZ 1990). En *A. muletensis*, las puestas dobles son raras y sólo el 12-14 % de los machos transportan una segunda puesta (BUSH 1996). Por otra parte, las puestas triples fueron inicialmente documentadas (ROMÁN & MAYOL 1997), pero su frecuencia no fue calculada. Sin embargo, nuestros datos muestran que el 23.91 % de las muestras analizadas fueron consideradas múltiples, y el 3.26 % de ellas eran triples.

Comparando la presencia de puestas múltiples en poblaciones silvestres con la información previamente publicada sobre individuos cautivos, encontramos diferencias estadísticamente significativas. Una mayor proporción de puestas múltiples fueron encontradas en individuos silvestres. La baja incidencia de puestas múltiples en individuos cautivos puede ser debido al poco tiempo disponible para un macho para obtener una segunda puesta de una hembra (BUSH, 1996). Los machos en poblaciones silvestres podrían tener un intervalo de tiempo más largo, en el que aceptar puestas adicionales. Además, la *sex-ratio* operativa durante la época de reproducción determina el potencial para la aparición de puestas múltiples. Si hay más hembras disponibles, habrá más posibilidades de que un macho se aparee con más de una

hembra en un período de tiempo corto y entonces cargar con más de una puesta (BUSH 1996). Es posible también, que los individuos silvestres se reproduzcan en densidades más elevadas que en cautividad, y los machos silvestres podrían obtener más puestas adicionales, simplemente porque hay mayor probabilidad de encontrar más de una hembra grávida en su período receptivo.

8.7. Supervivencia de los adultos

En muchos vertebrados, el dimorfismo sexual surge como consecuencias de la selección natural y el equilibrio entre los costes y ganancias del cuidado parental (CLUTTON-BROCK 1988; BENNET & OWENS 2002). En aves, por ejemplo, los estudios comparativos muestran que las diferencias en mortalidad y tamaño corporal están asociadas con el papel asimétrico de ambos sexos en el cuidado parental (OWENS & BENNET 1994; OWENS & HARTLEY 1998). En el presente trabajo hemos investigado la probabilidad de supervivencia en machos y hembras de un sapo partero, una especie con un dimorfismo sexual sesgado hacia las hembras y un cuidado parental protagonizado por los machos. Al contrario de lo que nos esperábamos, hemos encontrado que las probabilidades de mortalidad en machos no eran mayores que en las hembras.

MONNET & CHERRY (2002) mostraron que en las especies de anuros el tamaño corporal está asociado a una diferencia en la estructura de edad de machos y hembras. En el *ferreret*, los machos tienden a reproducirse un año antes que las hembras (PINYA & PÉREZ-MELLADO 2013). Sin embargo, nuestro análisis de captura-recaptura sugiere que la esperanza de vida para ambos sexos es similar, como ya fue estimada por PINYA & PÉREZ-MELLADO (2013). Además, la forma inusual de cuidado parental descarta el papel de la competencia sexual, como el principal predictor del dimorfismo sexual por tamaño corporal, porque la fertilidad de los machos está limitada por el tamaño corporal (MÁRQUEZ ET AL. 2004).

Por otra parte la matriz de Lefkovitch, que describe el ciclo de vida de un macho, sugiere una aptitud biológica (*fitness*) media de 1.00. Este valor absoluto debe tomarse con precaución porque el modelo es un ciclo de vida extremadamente simplificado. Por ejemplo, un modelo continuo en lugar de uno discreto podría ser probablemente más apropiado. Por otra parte, los juveniles y la supervivencia de los renacuajos fue estimada condicionada a la recaptura, y posiblemente está subestimada (SCHMIDT 2003). Sin embargo, los valores de elasticidad de

cada parámetro es probable que sean menos sesgados porque se calcularon como cambios proporcionales (CASWELL 2001).

Los resultados muestran un papel importante de la probabilidad de metamorfosearse tan pronto como sea posible. Los primeros individuos en metamorfosearse se reproducen un año antes que los machos más tardíos. Este hecho podría dar una ventaja importante (un 31% de incremento en el promedio de su aptitud biológica) para un individuo de metamorfosis temprana. A pesar del hecho de que este no es el parámetro con mayor elasticidad, la selección de un ciclo más rápido podría jugar un importante papel en el dimorfismo sexual del tamaño corporal. En aves de presa, por ejemplo, los individuos que nacen antes son principalmente machos. Se piensa que esta proporción sesgada es adaptativa ya que los machos que nacen pronto pueden reproducirse en su primer año (GRIGGIO ET AL. 2003). Esta hipótesis se aproxima al modelo de Arak (ARAK 1988), que predice un dimorfismo sexual por tamaño relacionado con la diferencia en el gradiente selectivo entre machos y hembras. Sin embargo, hay una falta de información para un estudio comparativo de la recompensa evolutiva de las estrategias de machos y hembras.

Existen pocas estimas robustas de supervivencia dependiente del sexo y solo son para un número reducido de especies, por lo que resulta complicado comparar nuestros resultados. Sin embargo, dado el coste de una supervivencia tardía, llama la atención que el 30 % de los renacuajos retrasen la metamorfosis a la temporada siguiente. Una posible explicación es que la variabilidad de las condiciones ambientales posee para los renacuajos de metamorfosis tardía algo así como un seguro del éxito reproductivo, como se ha postulado para otros grupos zoológicos (MOCK & FORBES 1995).

Parece, por tanto, que la supervivencia adulta anual de diferentes especies de anfibios es superior al 50 % y, en algunos casos, se acerca al 90 % (WELLS 2007 y referencias incluidas). Aunque la información de supervivencia anual no es estrictamente comparable, debido a que algunos estudios emplean simples correcciones de la probabilidad de recaptura (WELLS 2007), la supervivencia anual de un adulto de *ferreret* es similar a los valores obtenidos por otros anuros de la zona templada, como *Rana lessonae* (HOLENWEIG 2001) o *Bufo bufo* (HEUSSER 1968). Además, encontramos que en *A. muletensis* no hay diferencia aparente en la supervivencia de machos y hembras, como es el caso de algunas poblaciones de anuros, como en el género *Desmognathus*, *Rana luteivendris* o *R. temporaria* (TURNER 1960; TILLEY 1980;

GIBBONS & MCCARTHY 1984). Así, podemos concluir que la inversión reproductiva de los adultos cargando los huevos, no supone una menor probabilidad de supervivencia en comparación con las hembras.

Finalmente, hemos encontrado evidencias para una baja supervivencia juvenil, comparada con el valor de los adultos, posiblemente debido al proceso de dispersión juvenil. No disponemos de información similar de ninguna población cercana, pero es probable que la movilidad de los juveniles postmetamórficos pueda ser una adaptación a una estructura metapoblacional originaria del ferreret.

8.8. Molestias durante la reproducción

El impacto real de la llegada de *Natrix maura* sobre una población dada de adultos es desconocido (HEMMER & ALCOVER 1984; ROMÁN & MAYOL 1997 y referencias incluidas). Los datos obtenidos en la localidad XIX.B.2 sugieren que durante un mínimo de dos temporadas consecutivas, se produjo una interrupción de la actividad reproductora, de acuerdo al bajo número de adultos encontrados y la reducción progresiva de renacuajos desde 2007 hasta el valor mínimo observado en 2012 y 2013. Durante este tiempo podría haber ocurrido una alteración en el uso del hábitat de reproducción o un mayor uso de los refugios fuera del agua, como si de comportamientos antidepredadores se tratase (KATS ET AL. 1988; SKELLY & WERNER 1990; KIESECHER ET AL. 1996; KIESECHER & BLAUSTEIN 1997; RICHTER-BOIX ET AL. 2007).

Además, la información disponible de la localidad 4.A, también muestra una reducción de la población larvaria como consecuencia de la llegada de *N. maura*, pero las consecuencias son menos impactantes en comparación con la población XIX.B.2, debido a que tiene una mayor población larvaria y a la existencia de múltiples puntos de reproducción dentro la misma localidad.

La descripción de estas observaciones, permite ilustrar los efectos potenciales de los depredadores introducidos, que pueden llevar a una población a su extinción. En una especie de vida corta, como *A. muletensis*, y en una población joven (de reciente creación), la profunda interrupción durante la reproducción puede causar la extinción de una población pequeña y aislada. Por otra parte, en una población mayor, la presencia de varios puntos de reproducción puede minimizar el efecto de *N. maura*, pero también puede reducir su población.

Es por ello, que en futuras acciones de conservación, como la creación de nuevas poblaciones, la distancia a la población de *N. maura* conocida y su presencia en la misma cuenca hidrográfica debe ser tomada en cuenta, dado que se trata de la primera causa de amenaza para poblaciones silvestres de este anfibio endémico.

CAPÍTULO IX CONCLUSIONES



9. CONCLUSIONES

- 9.1. Cada individuo adulto presenta un patrón de coloración dorsal diferente que permite la aplicación de técnicas de fotoidentificación para el reconocimiento individual dentro de una población, y su consecuente aplicación en el estudio demográfico de la especie.
- 9.2. Se ha comprobado que el diámetro timpánico y la longitud corporal son los parámetros morfológicos que más contribuyen al dimorfismo sexual, si bien no explican el 100 % del mismo. Se han construido funciones de clasificación que permiten asignar el sexo en base a 14 variables morfológicas y que clasifican correctamente al 100% de los individuos adultos.
- 9.3. Los ejemplares adultos procedentes de localidades artificiales presentan un tamaño y una condición corporal con valores más elevados que aquéllos que provienen de localidades naturales.
- 9.4. La descendencia de los individuos que han sido introducidos en localidades artificiales procedentes de localidades naturales han sufrido un cambio en el tamaño corporal medio en un período de 9 a 16 años. Este cambio puede ser considerado un cambio morfológico ultrarrápido, como ya ha sido documentado en otras especies.
- 9.5. Desde el punto de vista del individuo, los hábitats artificiales (aljibes, abrevaderos y otros) son claramente los más adecuados, como muestran los resultados de tamaño y condición corporal, así como el cambio ultrarrápido sufrido, e incluso los podríamos definir como un hábitat óptimo. Sin embargo, presentan unos stocks reproductivos menores que los de las poblaciones naturales, lo que los hace más propensos al colapso frente a la llegada de depredadores como la culebra viperina.
- 9.6. Por otra parte, los hábitats naturales presentan individuos más pequeños y con una condición corporal con valores más reducidos, pero presentan poblaciones más grandes, que permitiría hacer frente a la llegada de depredadores alóctonos.

- 9.7. Es necesario un equilibrio entre las condiciones óptimas para los individuos y las poblaciones en las futuras acciones de conservación, tales como la selección de nuevas localidades para la creación de nuevos puntos de cría.
- 9.8. Se han observado cinco tipos de malformaciones en poblaciones silvestres, todas ellas en las extremidades, si bien no han llegado aún a cifras preocupantes. Se desconoce la causa real de dichas malformaciones. Cabe por lo tanto plantear futuros estudios sobre diferentes casos de malformación para establecer, por una parte, las causas originales y, por otra, si éstas suponen un factor de amenaza para las poblaciones naturales.
- 9.9. Se han aportado datos sobre la longevidad media, las curvas de crecimiento, las tasas de crecimiento y la edad de madurez sexual para las poblaciones silvestres que permiten realizar comparaciones demográficas entre poblaciones y contribuir al conocimiento demográfico de la especie en vistas a la gestión para su conservación. En este sentido, las hembras adultas muestran una tasa de crecimiento y una edad media mayor que los machos, pero una esperanza de vida similar.
- 9.10. Se ha documentado el tamaño medio de puesta en las poblaciones silvestres, valor que no difiere significativamente del valor obtenido previamente para poblaciones cautivas y trabajos previos. Sin embargo, se han obtenido frecuencias de aparición de dobles puestas significativamente más elevadas que en las poblaciones cautivas, e incluso se han documentado casos de puestas triples.
- 9.11. Los valores de supervivencia anual adulta son similares para machos y para hembras y encajan con los valores obtenidos para otras especies de anuros como *Rana lessonae* o *Bufo bufo*. Por lo que la inversión energética del transporte de la puesta por parte de los machos no supone una reducción de la probabilidad de supervivencia en comparación con las hembras. Mientras que la supervivencia anual juvenil es significativamente menor que en el caso de los adultos, posiblemente debido a la dispersión juvenil, aunque aún no se ha podido corroborar, por falta de información en el resto de poblaciones de la especie.

- 9.12. La introducción de *Natrix maura* en una población natural pequeña y aislada puede causar una interrupción en la reproducción pudiendo conducir la población a su extinción. En poblaciones mayores, la presencia de diferentes puntos de reproducción minimiza el efecto con un mayor stock reproductor y, repartido en diferentes puntos de reproducción, su efecto puede atenuarse, aunque también se produce una reducción poblacional.

- 9.13. En futuras acciones de conservación, como la creación de nuevas poblaciones, se debe tener en cuenta la distancia más cercana de las poblaciones de *N. maura* y la presencia en la misma cuenca hidrográfica.



CAPÍTULO X REFERENCIAS

10.1. REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFICAS

- ACEVEDO P., CASSINELLO J. & CORTÁZAR (2007). The Iberian Ibx is under an expansion trend but displaced to suboptimal habitats by the presence of extensive goat livestock in central Spain. *Biodiversity and Conservation*, 16: 3361-3376.
- ALCOVER J.A. & MAYOL J. (1980). Notícia del hallazgo de *Baleaphryne* (Amphibia: Anura: Discoglossida) viviente en Mallorca. *Doñana Acta Vertebrata*. 7, 266–269.
- ALCOVER J.A. & MAYOL J. (1981). Espècies reliquies d'amfibis i rèptils a les Balears i Pitiüses. *Bolletí de la Societat d'Història Natural de les Illes Balears* 25, 151–167.
- ALCOVER J.A., MOYÀ-SOLÀ S. & PONS-MOYÀ J. (1981). Les Quimeres del Passat: Els vertebrats fòssils de Plio-Quaternari de les Balears i Pitiüses (Palma de Mallorca: Editorial Moll).
- ALCOVER J.A., MAYOL J., JAUME D., ALOMAR G. & JURADO J. (1984). Biologia i Ecologia de les poblacions relictas de *Baleaphryne muletensis* a la muntanya mallorquina. In *Història Biològica Del Ferreret*, J.A. ALCOVER & H. HEMMER, eds. (Palma de Mallorca: Editorial Moll), pp. 129–152.
- ALOMAR G. & REYNÉS A. (1991). Noves aportacions al coneixement de la distribució del Ferreret *Alytes muletensis* (Sanchiz i Adrover, 1977) a l'illa de Mallorca. *Bolletí de la Societat d'Història Natural de les Illes Balears* 34, 109–112.
- ALOMAR G., MAYOL J. & ALCOVER J.A. (1983). *Baleaphryne* et les verébrés relictas des Baléares: état des connaissances et quelques conséquences généralisables. *Bull. Société Zool. Fr.* 108, 635–647.
- ALTABÀ C.R. (1997). Phylogeny & biogeography of midwife toads: a reappraisal. *Contrib. Zool.* 66, 257–262.
- ALTIG R. (2007). Comments on the descriptions and evaluations of tadpole mouthpart anomalies. *Herpetological Conservation and Biology* 2 (1): 1-4.
- ANDREU A.C., DÍAZ-PANIAGUA C. & KELLER C. (2000). La tortuga mora (*Testudo graeca* L.) en Doñana. *Monografías de Herpetología*, 5. Barcelona, España: Asociación Herpetológica Española.
- ARAK A. (1988). Sexual dimorphism in body size: a model and a test. *Evolution* 42 (4): 820–25.

- ARNTZEN J.W. & GARCÍA-PARÍS M. (1995). Morphological and allozyme studies of midwife toads (Genus *Alytes*), including the description of two new taxa from Spain. *Contrib. Zool.* 65, 5-34.
- ARNTZEN J.W. & GARCÍA-PARÍS M. (1997). Phylogeny and biogeography of midwife toads (*Alytes*, Discoglossidae): a rebuttal. *Contrib. Zool.* 66, 263-268.
- BENNET P. & OWENS I. (2002). Evolutionary ecology of birds: life-history, mating systems and extinction. Oxford Series in Ecology and Evolution. Oxford University Press.
- BERGER L. (1973a). Sexual maturity of males within forms of *Rana esculenta* complex. *Zoologica Poloniae*, 22: 177-88.
- BERGER L. (1973b). Systematics and hybridization in european green frogs of *Rana esculenta* complex. *Journal of Herpetology*, 7: 1-10.
- BLAUSTEIN A.R. & JOHNSON P.T.J. (2003). The complexity of deformed amphibians. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 1 (2): 87-94.
- BLUMESHINE S.C., LODGE D.M. & HODGSON J.R. (2000). Gradient of fish predations alters body size distributions of lake benthos. *Ecology*, 82 (2): 374-86.
- BÖLLET S., ERBEN R.G. & LINSENMAIR K.E. (1997). Wie zuverlässig ist die skeletochronologische altersbestimmung bei der geburthelferkröte *Alytes obstetricans*? *Mertensiella* 7: 315-27.
- BOSCÀ E. (1881). Correcciones y adiciones al catálogo de los reptiles y anfibios de España y Portugal e Islas Baleares. *An. Soc. Esp. Hist. Nat.* 10, 89-112.
- BOSCH J. & MÁRQUEZ R. (1996). Discriminant functions for sex identification in two midwife toads (*Alytes obstetricans* and *A. cisternasii*). *Herpetol. J.*, 6: 106-109.
- BOSCH J., MARTINEZ-SOLANO I. & GARCÍA-PARÍS M. (2001). Evidence of a chytrid fungus infection involved in the decline of the common midwife toad (*Alytes obstetricans*) in protected areas of central Spain. *Biol. Conserv.* 97, 331-337.
- BRÖNMARK C. & MINER J.G. (1992). Predator-induced phenotypical change in body morphology in crucian carp. *Science* 258: 1348-1350.
- BULEY K.R. & GARCÍA G. (1997). The recovery programme for the Mallorcan midwife toad *Alytes muletensis*: An update. *Dodo J. Jersey Wildl. Preserv. Trusts*, 33: 80-90.

- BULEY K.R. & GONZÁLEZ-VILLAVICENCIO C. (2000). The Durrell Wildlife Conservation Trust & the Mallorcan Midwife Toad *Alytes muletensis* - into the 21st century. *Herpetol. Bull.*, 72, 17-20.
- BUSH S. (1993). Courtship & male parental care in the Majorcan midwife toad, *Alytes muletensis*. PhD dissertation. University of East Anglia.
- BUSH S. (1996a). The reproductive behaviour of the ferreret *Alytes muletensis*. *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*, 7: 35-37.
- BUSH S. (1996b). Why is double clutching rare in the Mallorcan midwife toad? *Animal Behaviour* 52: 913-922.
- BUSH S. (1997). Vocal behaviour of males and females in the Majorcan Midwife Toad. *J. Herpetol.*, 31: 251-257.
- BUSH S. & DELL D.J. (1997). Courtship and male competition in the Mallorcan midwife toad, *Alytes muletensis*. *Ethology*, 103: 292-303.
- BUSH S., DYSON M. & HALLIDAY T. (1996). Selective phonotaxis by males in the Majorcan midwife toad. *Proc. R. Soc. Biol. Sci.*, 263: 913-927.
- CALVO B. & FURNESS R.W. (1992). A review of the use and the effects of marks and devices on birds. *Ringing and Migration*, 13: 129-151.
- CASWELL H. (2001). Matrix population models. 2^a ed. Sunderland, Massachusetts, USA: Sinauer Press.
- CHERRY M.I. & FRANCILLON-VIEILLOT M. (1992). Body size, age and reproduction in the leopard toad, *Bufo pardalis*. *Journal of Zoology*, 228: 41-50.
- CLUTTON-BROCK T.H. (1988). Reproductive success: studies of individual variations in contrasting breeding systems. Chicago, Illinois, USA: University of Chicago Press.
- COTTAM C. (1956). Uses of marking animals in ecological studies: marking birds for scientific purposes. *Ecology*, 37: 675-681.
- CRIBADO J., MEJÍAS R. & MAYOL J. (1991). Plan de Recuperación del Ferreret (*Alytes muletensis*). (Palma: Direcció General d'Infraestructures Agràries i Medi Natural. Conselleria d'Agricultura i Pesca. Govern Balear.).
- DENTON J.S. & BEEBEE T.J.C. (1993). Density-related features of natterjack toad (*Bufo calamita*) populations in Britain. *Journal of Zoology*, 229: 105-119.

- DONAIRE-BARROSO D. & BOGAERTS S. (2003). Datos sobre taxonomía, ecología y biología de *Alytes maurus* (Pasteur & Bons 1962) (Anura, Discoglossidae). *Butlletí Soc. Catalana Herpetol.*, 16: 25-41.
- DONNELLY M.A., GUYER C., JUTERBOVK J.E. & ALFORD R.A. (1994). Techniques for marking amphibians. In measuring and monitoring biological diversity. Standard methods for amphibians, edited by W.R. HAYER, M.A. DONNELLY, R.W. McDIARMID, L.C. HAYEK & M.D. FOSTER, 277-84. Smithsonian Institution Press.
- DUNHAM A.E. (1978). Food availability as a proximate factor in influencing individual growth rates in the iguanid lizard *Sceloporus merriami*. *Ecology*, 59: 770-78.
- DYSON M., BUSH S. & HALLIDAY T. (1998). Phonotaxis by female Majorcan midwife toads *Alytes muletensis*. *Behaviour*, 135: 213-230.
- ESTEBAN M., CASTANET J. & SANCHIZ F.B. (1998). Inferring age and growth from remains of fossil and predated recent anurans: a test case using skeletochronology. *Canadian Journal of Zoology*, 76: 1689-1695.
- FELLERS G.M., BRADFORD D.F., PRATT D. & WOOD L.L. (2007). Demise of repatriated populations of mountain yellow-legged frogs (*Rana muscosa*) in the Sierra Nevada of California. *Herpetological Conservation and Biology*, 2 (1): 5-21.
- FISHER M.C., GARNER T.W.J. & WALKER S.F. (2009). Global Emergence of *Batrachochytrium dendrobatidis* and amphibian chytridiomycosis in space, time, and host. *Annu. Rev. Microbiol.*, 63: 291-310.
- GARCÍA-PARÍS M., MONTORI A. & HERRERO P. (2004). Amphibia. Lissamphibia (Madrid, España: Museo Nacional de Ciencias Naturales).
- GARNER T.W.J., GARCÍA G., CARROLL B. & FISHER M.C. (2009). Using itraconazole to clear *Batrachochytrium dendrobatidis* infection, and subsequent depigmentation of *Alytes muletensis* tadpoles. *Dis. Aquat. Organ.*, 83: 257-260.
- GIBBONS M.M. & MCCARTHY T.K. (1984). Growth, maturation and survival of frogs *Rana temopraria* L. *Holarc. Ecolo.*, 7: 419-427.
- GONZÁLEZ-MIRAS E., GARCÍA-CARDENETE L. & TEJEDO M. (2012). Historia Natural. In Seguimiento de *Alytes dickhilleni*: Informe Final, J. BOSCH & E. GONZÁLEZ-MIRAS, eds. (Madrid: Asociación Herpetológica Española & Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente), pp. 17-22.

- GREEN A.J. (2001). Mass/length residuals: measures of body condition or generators of spurious results? *Ecology*, 82 (5): 1473-1483.
- GRIFFITHS R.A., SCHLEY L., SHARP P.E., DENNIS J.L. & ROMÁN A. (1998). Behavioural responses of Mallorcan midwife toad tadpoles to natural and unnatural snake predators. *Anim. Behav.*, 55: 207-214.
- GRIFFITHS R.A., GARCÍA G. & OLIVER J.A. (2008). Re-introduction of the Mallorcan midwife toad, Mallorca, Spain. In: Global re-introduction perspectives: reintroduction casestudies from around the Globe, P.S. SOORAE, ed. (Abu Dhabi: IUCN/SSC Reintroduction Specialist Group), pp. 54-57.
- GRIGGIO M., HAMERSTROM F., ROSENFELD R.N. & TAVECCHIA G. (2003). Seasonal variation on the sex ratios of fledgling american kestrel: a 30 year study. *The Wilson Bulletin* 114 (4): 474-478.
- GUARINO F.M., DE POUS P., CROTTINI A., MEZZASALMA M. & ANDREONE F. (2011). Age structure and growth in a population of *Pelobates varaldii* (Anura, Pelobatidae) from Northwestern Morocco. *Amphibia-Reptilia*, 32: 550-556.
- GUARINO F.M., LUNARDI S., CARLOMAGNO M. & MAZZOTTI S. (2003). A skeletochronological study of growth, longevity and age at sexual maturity in a population of *Rana latastei* (Amphibia, Anura). *Journal of Biosciences*, 28: 775-782.
- GUICKIN D., GRIFFITHS R.A., MOORE R., JOGER U. & WINK M. (2006). Introduced alien or persecuted native? Resolving the origin of the viperine snake (*Natrix maura*) on Mallorca. *Biodivers. Conserv.*, 15: 3045-3054.
- GUTHRIE R.D. (2003). Rapid body size decline in alaskan pleistocene horses before extinction. *Nature*, 426: 169-171.
- HALLIDAY T.R. & TEJEDO M. (1995). Intrasexual selection and alternative mating behavior. In *Amphibian Biology*, edited by H. HEATWOLE & B.K. SULLIVAN, 419-468. Chipping Norton, UK: Surrey Beatty and Sons.
- HARRISON S. & HASTINGS A. (1996). Genetic and evolutionary consequences of metapopulation structure. *Trends Ecol. Evol.*, 11: 180-183.
- HASTINGS A. (1997). *Population biology: concepts and models*. Berlin: Springer-Verlag.
- HEMMER H. & ALCOVER J.A. (1984). *Life History of the Mallorcan Midwife Toad*. Monografíes Científiques 3. Palma de Mallorca: Editorial Moll.

- HEUSSER H. (1968). Die lebensweise der erdkröte, *Bufo bufo* (L.): Wanderungen und sommerquartiere. *Rev. Suisse Zool.*, 75: 927-982.
- HOLENWEG A.K. (2001). Survival in adults of water frog *Rana lessonae* and its hybridogenetic associate *Rana esculenta*. *Canadian Journal of Zoology*, 79: 652-661.
- HUEY R.B., GILCHRIST G.W., CARLSON M.L., BERRIGAN D. & SERRA L. (2000). Rapid evolution of a geographic cline in size in an introduced fly. *Science*, 287: 308-309.
- JOHNSON P.T.J., LUNDE K.B., RITCHIE E.G. & LAUNER A.E. (1999). The effect of trematode infection on amphibian limb development and survivorship. *Science*, 284: 802-804.
- JOHNSON P.T.J., LUNDE K.B., THURMAN E.M., RITCHIE E.G., WRAY S.N., SUTHERLAND D.R., KAPFRE J.M., FREST T.J., BOWERMAN J. & BLAUSTEIN A.R. (2002). Parasite (*Riberiroida ondatrae*) infection linked to the amphibian malformation in the Western United States. *Ecological Monographs*, 72: 151-168.
- JOHNSON P.T.J. & PAULL S.H. (2011). The ecology and emergence of diseases in fresh waters. *Freshwater Biology*, 56: 638-657.
- KADEL K. & HEMMER H. (1984). Temperature dependence of larval development in the Mallorcan midwife toad, *Baleaphryne muletensis*. In *Història Biològica Del Ferreret*, H. HEMMER & J.A. ALCOVER, eds. (Palma de Mallorca: Editorial Moll), pp. 169-173.
- KRAAIJEVELD-SMIT F.J., ROWE G., BEEBEE T.J.C. & GRIFFITHS R.A. (2003). Microsatellite markers for the Mallorcan midwife toad *Alytes muletensis*. *Mol. Ecol. Notes*, 3: 152-154.
- KRAAIJEVELD-SMIT F.J., BEEBEE T.J.C., GRIFFITHS R.A., MOORE R.D. & SCHLEY L. (2005). Low gene flow but high generic diversity in the threatened Mallorcan midwife toad *Alytes muletensis*. *Mol. Ecol.* 14, 3307-3315.
- KRAAIJEVELD-SMIT F.J., GRIFFITHS R.A., MOORE R.D. & BEEBEE T.J.C. (2006a). Captive breeding and the fitness of reintroduced species: a test of the responses to predators in a threatened amphibian. *J. Appl. Ecol.*, 43: 360-365.
- KRAAIJEVELD-SMIT F.J.L., GRIFFITHS R.A., MOORE R.D. & BEEBEE T.J.C. (2006b). Captive breeding and the fitness of reintroduced species: a test of the responses to predators in a threatened amphibian. *J. Appl. Ecol.*, 43: 360-365.
- KATS L.B., PETRANKA J.W. & SIH A. (1988). Antipredator defenses and the persistence of amphibian larvae with fishes. *Ecology*, 69: 1865-1870.

- KIESECHER J.M. & BLAUSTEIN A.R. (1997). Population differences in responses of red-legged frogs (*Rana aurora*) to introduce bullfrog. *Ecology*, 78: 1752-1760.
- KIESECHER J.M., CHIVERS D.P. & BLAUSTEIN A.R. (1996). The use of chemical cues in predator recognition by western toad tadpoles. *Animal Behaviour*, 52: 1237-1245.
- KNOEPFFLER L.P. (1962). Contributions a l'étude du genre *Discoglossus* (Amphibiens, Anoures). *Vie Milieu*, 13: 1-94.
- KYRIAKOPOULOU-SKAVOUNOU P., STYLIANOU P. & TSIORA A. (2008). A skeletochronological study of age, growth and longevity in a population of the frog *Rana ridibunda* from Southern Europe. *Zoology*, 111: 30-36.
- LANDE R. (1988). Genetics and demography in biological conservation. *Science*, 241: 1455-1460.
- LEA J., DYSON M. & HALLIDAY T. (2001). Calling by male midwife toads stimulates females to maintain reproductive condition. *Anim. Behav.*, 61: 373-377.
- LEA J., DYSON M. & HALLIDAY T. (2002a). The effects of cohort structure and density on larval growth and development in *Alytes muletensis*: implications for conservation. *Herpetol. J.*, 12: 155-161.
- LEA J., DYSON M. & HALLIDAY T. (2002b). Phonotaxis to advertisement calls by midwife toads (*Alytes muletensis*) is not necessarily related to mating. *Amphibia-Reptilia*, 23: 151-159.
- LEA J., HALLIDAY T. & DYSON M. (2003). The mating strategy of *Alytes muletensis*. Some males are less ready to mate than females. *Amphibia-Reptilia*, 24: 169-180.
- LECLAIR R. & LAURIN G. (1996). Growth and body size in population of mink frogs *Rana septentrionalis* from two latitudes. *Ecography*, 19: 296-304.
- LINNÉ C. (1758). *Systema naturae, sive regna tria naturae systematice proposita per secundum classes, ordines, genera, and species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis* (Leiden, Holland: Theodorum Haak).
- LONGCORE J.E., PESSIER A.P. & NICHOLS D.K. (1999). *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia*, 91: 219-227.
- LÓPEZ-JURADO L.F., GARCÍA-MARQUEZ M., & MATEO J.A. (1999). Descripción de la distribución primitiva del lagarto gigante de El Hierro y de su regresión histórica. In *El lagarto*

- gigante de El Hierro. Bases para su conservación., editado por L.F. LÓPEZ-JURADO & J.A. MATEO, 7–16. España: Asociación Herpetológica Española & Gobierno de Canarias.
- MA X. & LU X. (2009). Sexual size dimorphism in relation to age and growth based on skeletochronological analysis in a tibetan frog. *Amphibia-Reptilia*, 30: 351-359.
- MADSEN T. & SHINE R. (2002). Short and chubby or long and slim? Food intake, growth and body condition in free-ranging pythons. *Austral Ecology*, 27: 672-680.
- MÁRQUEZ R. (1990). Male parental care, sexual selection, and the mating system of the midwife toads *Alytes obstetricans* and *Alytes cisternasii*. PhD dissertation. University of Chicago. Chicago.
- MÁRQUEZ R., BELTRÁN J.F., SLIMANI T., RADI M., LLUSIA D. & EL MOUDEN E.H. (2011). Description of the advertisement call of the Moroccan midwife toad (*Alytes maurus* Pasteru & Bons, 1962). *Alytes*, 27: 142-150.
- MÁRQUEZ R., ESTEBAN M. & CASTANET J. (1997). Sexual size dimorphism and age in *Alytes obstetricans* and *A. cisternasii*. *Journal of Herpetology* 31 (1): 52-59.
- MARTENS H. (1984). Temperature selection in tadpoles of *Baleaphryne muletensis*. In *Història Biològica Del Ferreret*, H. HEMMER & J.A. ALCOVER, eds. (Palma de Mallorca: Editorial Moll), pp. 163-167.
- MARTÍNEZ-RICA J.P., PARDO-ARA M.P. & CERVANTES-VALLEJOS J. (1984). La reproducción y conducta en cautividad del sapillo balear, *Baleaphryne muletensis*. In *Història Biològica Del Ferreret*, H. Hemmer & J.A. Alcover, eds. (Palma de Mallorca: Editorial Moll), pp. 175-191.
- MARTÍNEZ-SOLANO I., GONÇALVES H.A., ARNTZEN J.W. & GARCÍA-PARÍS M. (2004). Phylogenetic relationships and bioecography of midwife toads (Discoglossidae: *Alytes*). *Journal of Biogeography*, 31: 603-618.
- MATEO J.A. (2007). El lagarto gigante de La Gomera. La Gomera, España: Cabildo de La Gomera.
- MAYOL J. (2003). Rèptils i amfibis de les Balears (Palma de Mallorca: Editorial Moll).
- MAYOL J. (2005). El sapito resucitado por la ciencia y salvado por la conservación. El caso del ferreret en Mallorca. In *Al Borde de la extinción: una visión integral de la recuperación de fauna amenazada en España*, I. JIMÉNEZ-PÉREZ & M. DELIBES DE CASTRO, eds. (Valencia, España: EVREN), pp. 117-134.

- MAYOL J. & ALCOVER J.A. (1981). Survival of *Baleaphryne* Sanchíz & Adrover, 1977 (Amphibia: Anura: Discoglossidae) on Mallorca. *Amphibia-Reptilia*, 1: 343-345.
- MAYOL J. & OLIVER J.A. (2009). El ferreret, del descubrimiento a la conservación. In VII Jornadas científicas del Parque Natural de Peñalara y del Valle de El Paular, (Madrid, España), pp. 27-36.
- MAYOL J., ALCOVER J.A., ALOMAR G., POMAR G. & JAUME D. (1980). Supervivència de *Baleaphryne* (Amphibia: Anura: Discoglossidae) a les muntanyes de Mallorca. Nota preliminar. *Butlletí de l'Institut Català d'Història Natural*, 45: 115-119.
- MAYOL J., ALCOVER J.A., JAUME D., ALOMAR G., JURADO J. & POMAR G. (1984). Morfologia externa dels adults de *Baleaphryne muletensis*. En: Life History of the Mallorcan Midwife Toad, H. HEMMER & J.A. ALCOVER, eds. (Palma de Mallorca: Editorial Moll), pp. 15–20.
- MAYOL J., GRIFFITHS R.A., BOSCH J., BEEBEE T.J.C., SCHMIDT B.K., TEJEDO M., LIZANA M., MARTÍNEZ-SOLANO I., SALVADOR A., GARCÍA-PARÍS M., RECUERO-GIL E., ARNTZEN J.W., STUART S.N., HOFFMANN M., CHANSON J.S., COX N.A., BERRIDGE R.J., RAMANI P. & YOUNG B.E. (2008). *Alytes muletensis* (SANCHÍZ & ADROVER, 1979 "1977"). In Threatened Amphibians of the World., S.N. STUART, M. HOFFMANN, J.S. CHANSON, N.A. COX, R.J. BERRIDGE, P. RAMANI, & B.E. YOUNG, eds. (Barcelona, España: IUCN, Conservation International & Lynx Edicions), p. 758.
- MAYOL J., GRIFFITHS R.A., BOSCH J., BEEBEE T.J.C., SCHMIDT B.K., TEJEDO M., LIZANA M., MARTÍNEZ-SOLANO I., SALVADOR A., GARCÍA-PARÍS M., RECUERO-GIL E. & ARNTZEN J.W. (2009). *Alytes muletensis*. IUCN Red List Threat. Species.
- MCDONALD M.E., HERSHEY A.E. & O'BRIEN W.J. (1992). Cost of predation avoidance in young-of-year lake trout (*Salvelinus namaycush*): Growth differential in sub-optimal habitats. *Hydrobiologia*, 240 (1-3): 213-218.
- MEYER F. & GROSSE W.R. (1997). Populationökologische studien an amphibien mit hilfe der fotografischen individualerkennung: Übersicht zur methodik und anwendung bei der kreuzkröte (*Bufo calamita*). *Mertensiella*, 7: 79-92.
- MIAUD C., GUYÉTANT R. & ELMBERG J. (1999). Variations in life history traits in the common frog *Rana temporaria* (Amphibia: Anura): A literature review and new data from the French Alps. *Journal of Zoology* 249: 61-73.
- MOCK D.W. & FORBES L.S. (1995). The evolution of parental optimism. *Trends in Ecology and Evolution*, 10 (3): 130-134.

- MONNET J.M. & CHERRY M.I. (2002). Sexual size dimorphism in anurans. *Proceedings of the Royal Society of Biological Sciences*, 269: 2301-2308.
- MOORE R.D. (2002). The impact of introduced predators on the Mallorcan Midwife toad *Alytes muletensis*. PhD dissertation. University of Kent.
- MOORE R.D. & GRIFFITHS R.A. (2008). A conservation success story: the Mallorcan midwife toad *Alytes muletensis*. In *Threatened Amphibians of the World.*, S.N. Stuart, M. Hoffmann, J.S. Chanson, N.A. Cox, R.J. Berridge, P. Ramani, & B.E. Young, eds. (Barcelona: IUCN, Conservation International & Lynx Edicions), pp. 129-130.
- MOORE R.D., GRIFFITHS R.A., O'BRIEN C.M., MURPHY A., & JAY D. (2004a). Induced defences in an endangered amphibian in response to an introduced snake predator. *Oecologia*, 141: 139-147.
- MOORE R.D., GRIFFITHS R.A. & ROMÁN A. (2004b). Distribution of the Mallorcan midwife toad (*Alytes muletensis*) in relation to landscape topography and introduced predators. *Biological Conservation*, 116: 327-332.
- MORRISON C. & HERO J.M. (2003). Geographic variation in life-history characteristics of amphibians: a review. *Journal of Animal Ecology*, 72: 270-279.
- MURRAY D.L. & FULLER M.R. (2000). A critical review of the effects of marking on the biology of vertebrates. En: *Research techniques in animal ecology: Controversies and consequences*, p 15-64. New York: Columbia University Press.
- OLIVER J.A., MANZANO X., PIÑA S., BOSCH J., WALKER S.F., FISHER M.C. & ABADIE G. (2008a). Presència de *Batrachochytrium dendrobatidis* en poblacions silvestres de ferreret (*Alytes muletensis*) y sus implicaciones en la gestión de la especie. En: *El Rumbo del Arca. Actas del I Congreso Técnico de Conservación de Fauna y Flora Silvestres*, J. MAYOL & C. VIADA, eds. (Formentor, Mallorca: Conselleria de Medi Ambient),.
- OLIVER J.A., MANZANO X., BOSCH J., WALKER S.F. & FISCHER M. (2008b). Situació actual de la presència de *Batrachochytrium dendrobatidis* a poblacions de ferreret *Alytes muletensis*. En: *V Jornades de Medi Ambient de Les Illes Balears: Ponències I Resums*, G.X. PONS, ed. (Palma de Mallorca: Societat d'Història Natural de les Illes Balears), pp. 151-152.
- OLIVER J.A., MANZANO X., & PINYA S. (2009). Els plans de recuperació del ferreret (*Alytes muletensis* Sanchiz & Adrover, 1979): 19 anys de seguiment de les poblacions a la Serra de Tramuntana. En *Jornades de Biodiversitat Del Paratge Natural de La Serra de*

- Tramuntana, S. PINYA & M.A. VANRELL, eds. (Palma de Mallorca: Espais de Natura Balear), pp. 47–48.
- OWENS I. & BENNET P.M. (1994). Mortality costs of parental care and sexual dimorphism in birds. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, 257 (1348): 1-8.
- OWENS I. & HARTLEY I.R. (1998). Sexual dimorphism in birds: Why are there so many different forms of dimorphism? *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, 265 (1394): 394-407.
- PARRIS M.J. & TOMMIE O.C. (2004). Fungal pathogen causes competitive and developmental stress in larval amphibian communities. *Ecology*, 85: 3385-3395.
- PÉREZ-MELLADO V., ROMERO-BEVIÁ M., DE LA TORRE A., VICEDO M. & GARCÍA-SIRVENT J. (1999). Hábitat, distribución actual y tamaño de la población de *Gallotia simonyi* en la isla de El Hierro (Islas Canarias.” En: El lagarto gigante de El Hierro. Bases para su conservación., editado por L.F. LÓPEZ-JURADO & J.A. MATEO, 27-42. España: Asociación Herpetológica Española and Gobierno de Canarias.
- PÉREZ-TRIS J., DÍAZ J.A. & TELLERÍA J.L. (2004). Loss of body mass under predation risk: cost of antipredatory behaviour or adaptive fit-for-escape? *Animal Behaviour*, 67 (3): 511-521.
- PETITPIERRE E., JUAN C. & CARVAJAL A. (1997). Informe sobre el estudio genético de poblaciones exteriores del ferreret (*Alytes muletensis*). En: La recuperació del ferreret, *Alytes muletensis*, (Palma: Conselleria de Medi Ambient, Ordenació del Territori i Litoral), pp. 16-22.
- PINYA S. & PÉREZ-MELLADO V. (2009). Individual identification and sexual dimorphism in the endangered balearic midwife toad, *Alytes muletensis* (SANCHÍZ & ADROVER, 1981).” *Amphibia-Reptilia* 30: 439-443.
- PINYA S. & PÉREZ-MELLADO V. (2013). Ageing and growth of the endemic midwife toad, *Alytes muletensis*. *Endangered Species Research*, 22: 263-268.
- PLEGUEZUELOS J.M., MÁRQUEZ R. & LIZANA M. (2002). Atlas y Libro rojo de los anfibios y reptiles de España. (Madrid, España: Dirección General de Conservación de la Naturaleza & Asociación Herpetológica Española).

- PLYTYCZ B. & BIGAJ J. (1984). Preliminary studies on the growth and movements of the yellow-bellied toad, *Bombina variegata* (Anura: Discoglossidae). *Amphibia-Reptilia*, 5: 81-86.
- POUNDS J.A., BUSTAMANTE M.R., COLOMA L.A., CONSUEGRA J.A., FOGDEN M.P.L., FOSTER P.N., LA MARCA E., MASTER K.L., MERINO-VITERI A., PUSCHENDORF R., RON S.R., SÁNCHEZ-AZOFEIFA G.A., STIL, C.J. & YOUNG B.E. (2006). Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming. *Nature*, 439: 161-167.
- READING C.J. & CLARKE B.T. (1988). Multiple clutches, egg mortality and mate choice in the midwife toad, *Alytes obstetricans*. *Amphibia-Reptilia*, 9: 357-364.
- RICHTER-BOIX A., LLORENTE G.A. & MONTORI A. (2007). A comparative study of predator-induced phenotype in tadpoles across a pond permanency gradient. *Hydrobiologia*, 583: 43-56.
- ROCA V., GALDÓN M.A., MARTÍN J.E., GARCÍA G. & LÓPEZ J. (2004). Primeros datos acerca de la parasitación de la población natural de sapillo balear, *Alytes muletensis* (Sanchíz & Adrover, 1977) (Anura: Discoglossidae). *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*, 15: 44-49.
- ROCA V., GARCÍA G., CARBONELL E., SÁNCHEZ-ACEDO C. & DEL CACHO E. (1998). Parasites and conservation of *Alytes muletensis* (Sanchíz & Adrover, 1977) (Anura: Discoglossidae). *Revista Española de Herpetología*, 12: 91-95.
- ROMÁN A. (2002). *Alytes muletensis* (Sanchíz & Adrover, 1977). En Atlas y Libro Rojo de Los anfibios y reptiles de España, J.M. Pleguezuelos, R. Márquez, & M. Lizana, eds. (Madrid, España: Dirección General de Conservación de la Naturaleza & Asociación Herpetológica Española), pp. 79-81.
- ROMÁN A. & MAYOL J. (1995). A natural reserve for the "ferreret" (*Alytes muletensis*) (Sanchíz & Adrover, 1977) (Anura: Discoglossidae). En Scientia Herpetologica, G.A. Llorente, A. Montori, X. Santos, & M.A. Carretero, eds. (Barcelona: Asociación Herpetológica Española & Societas Europaea Herpetológica), pp. 354-356.
- ROMÁN A. & MAYOL J. (1997). La recuperació del ferreret (Palma de Mallorca: Conselleria de Medi Ambient, Ordenació del Territori i Litoral).
- ROMANSIC J.M., JOHNSON P.T.J., SEARLE C.L., JOHNSON J.E., TUNSTALL T.S., HAN B.A., ROHR J.R. & BLAUSTEIN A.R. (2011). Individual and combined effects of multiple pathogens on pacific treefrogs. *Oecologia*, 166: 1029-1041.

- SÁNCHEZ-PALOMARES O., RUBIO A., & BLANCO A. (2004). Definición y cartografía de las áreas potenciales fisiográfico-climáticas de hayedo en España. *Investigación Agraria. Sistemas y Recursos Forestales FS*: 13-62.
- SANCHÍZ F.B. (1998). *Encyclopedia of Paleoherpptology* (München: Friedrich Pfeil).
- SANCHÍZ F.B. & ADROVER R. (1977). Anfibios fósiles del Pleistoceno de Mallorca. *Doñana Acta Vertebrata*, 4: 5-25.
- SCHLEY L. (1996). Activity patterns of tadpoles and anti-predator behaviour of tadpoles and post-metamorphic Mallorcan midwife toads *Alytes muletensis*. M.Sc-Thesis. University of Kent.
- SCHLEY L. & GRIFFITHS R.A. (1998). Midwife toads (*Alytes muletensis*) avoid chemical cues from snakes (*Natrix maura*). *Journal of Herpetology*, 32: 572-574.
- SASAKI K., FOX S.F. & DUVALL D. (2008). Rapid evolution in the wild: Changes in body size, life-history traits, and behavior in hunted populations of the japanese mamushi snake. *Conservation Biology*, 23 (1): 93-102.
- SCHLEY L., GRIFFITHS R.A. & ROMÁN A. (1998). Activity patterns and microhabitat selection of Mallorcan midwife toad (*Alytes muletensis*) tadpoles in natural torrent pools. *Amphibia-Reptilia*, 10: 143-151.
- SCHMIDT B.R. (2003). Count data, detection probabilities, and the demography, dynamics, distribution and decline of amphibians. *Comptes Rendus Biologies*, 326 (Supplement 1 August): 119-124.
- SERVEI DE PROTECCIÓ D'ESPÈCIES (2007). Pla de recuperació del ferreret (*Alytes muletensis*) (Palma de Mallorca: Conselleria de Medi Ambient).
- SHINE R. (1979). Sexual selection and sexual dimorphism in the Amphibia. *Copeia*, 2: 297-306.
- SILVY N.J., LÓPEZ R.R. & PETERSON M.J. (2005). Techniques for wildlife investigations and management. En: *Wildlife marking techniques*, 339-363. Bethesda: The Wildlife Society.
- SINSCH U., LESKOVAR C., DROBIG A., KÖNIG A. & GROSSE W.R. (2007). Life-history traits in green toad (*Bufo viridis*) populations: Indicators of habitat quality. *Canadian Journal of Zoology*, 82: 665-673.
- SKELLY D.K. & WERNER E.E. (1990). Behavioral and live-historical responses of larval american toads to an odonate predator. *Ecology*, 71: 2313-2322.

- STREICH W.J., BECKMANN H., SCHNEEWEISS N. & JEWGENOW K. (1997). Computergestützte bildanalyse von fleckenmustern der rotbauchunke (*Bombina bombina*). *Mertensiella*, 7: 93-102.
- SUTHERLAND W.J. (1996). Ecological census techniques. A handbook. Cambridge, UK. Cambridge University Press.
- TILLEY S.G. (1980). Life histories and comparative demography of two salamander populations. *Copeia* 1980: 806-821.
- TONGE S.J. (1986). Collectin the Mallorcan Midwife toad. *Oryx*, 20: 74-78.
- TONGE S.J. & BLOXMAN Q. (1989). Breeding the Mallorcan Midwife toad. *International Zoo Yearbook*, 28: 45-53.
- TURNER F.B. (1960). Population structure and dynamics of the western spotted frog, *Rana p. pretiosa* Baird & Girard in Yellowstone Park, Wyoming. *Ecological Monographs*, 30: 251-278.
- VIADA C. (2005). Libro Rojo de los Vertebrados de las Baleares (Palma de Mallorca: Conselleria de Medi Ambient).
- VIERTEL B. (1984a). Habit, melanin pigmentation, oral disc, oral cavity and filter apparatus of the larvae of *Baleaphryne muletensis*. En: Història Biològica Del Ferreret, H. Hemmer & J.A. Alcover, eds. (Palma de Mallorca: Editorial Moll), pp. 21-44.
- VIERTEL B. (1984b). Suspension feeding of the larvae of *Baleaphryne muletensis*. En: Història Biològica Del Ferreret, H. Hemmer & J.A. Alcover, eds. (Palma de Mallorca: Editorial Moll), pp. 153-162.
- VREDENBURG V.T. & SUMMERS A.P. (2001). Field identification of chytridiomycosis in *Rana muscosa* (Camp 1915). *Herpetological Review*, 32 (3): 151-152.
- WALKER S.F., BOSCH J., JAMES T.Y., LITVINTSEVA A.P., OLIVER J.A., PIÑA S., GARCÍA G., ROSA G.A., CUNNINGHAM A.A., HOLE S., GRIFFITHS R.A. & FISHER, M.C. (2008). Invasive pathogens threaten species recovery programs. *Current Biology*, 18: 853-854.
- WELLS K.D. (2007). The ecology and behaviour of Amphibians. Chicago: University of Chicago Press.
- WINKLER C. & HEUNISCH G. (1997). Fotografische methoden der individualerkennung bei bergolch (*Triturus alpestris*) und fadenmolch (*T. helveticus*) (Urodela, Salamandridae). *Mertensiella*, 7: 71-77.

YILMAZ N., KUTRUP B., ÇOBANOĞLU U. & ÖZORAN Y. (2005). Age determination and some growth parameters of a *Rana ridibunda* population in Turkey. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 51: 67-74.

10.2. REFERENCIAS NORMATIVAS

Llei 1/1991, de 30 de enero, de espacios naturales y régimen urbanístico de las áreas de especial protección. BOCAIB núm. 31 de 9 de marzo de 1991.

Real Decreto 3181/1980, de 30 de diciembre por el que se protegen determinadas especies de la fauna silvestre y se dictan las normas precisas para asegurar la efectividad de esta protección. BOE núm. 56 de 6 de Marzo de 1981.

Decret 19/2007 de 16 de març, per qual s'aprova el Pla d'Ordenació dels Recursos Naturals de la Serra de Tramuntana. BOIB núm. 54 EXT de 11 de abril de 2007.

Acuerdo del Consejo de Gobierno de 17 de marzo de 2006, de aprobación de medidas cautelares urgentes para la contención de la Quitridiomycosis en las Islas Baleares. BOIB núm. 43 de 25 de marzo de 2006.

Resolución del conseller de Medio Ambiente de 30 de julio de 2007, por la que se aprueban los planes de recuperación de las saladinias (*Limonium* sps) de Calvià, del ferreret, de conservación del águila pescadora y de manejo de la gaviota de Audouin y el cormorán moñudo en las Islas Baleares. BOIB núm. 120 de 7 de agosto de 2007.



ANEXO I
COPIA SIMPLE DE LOS TRABAJOS
PUBLICADOS