



Con il contributo dello strumento finanziario
Life dell'UE

PROGETTO LIFE19 NAT/IT/000883 LIFE INSUBRICUS

“Urgent actions for long-term conservation of *Pelobates fuscus insubricus* in the distribution area”

DELIVERABLE

Studio di fattibilità del piano di reintroduzione e ripopolamento di
Pelobates fuscus Laurenti, 1768 (Anura, Pelobatidae)

Feasibility study for the reintroduction and repopulation plan of
Pelobates fuscus Laurenti, 1768 (Anura; Pelobatidae)



ACTION A.3

Supported by



Partners



Deliverable coordinator



Deadline

31/12/2022

Authors

Giovanni Soldato, Daniele Seglie, Paolo Eusebio Bergò,
Cristina Barbieri, Shade Amini

Gruppo di lavoro:

Valentina Parco: Responsabile del progetto Life Insubricus, Parco Lombardo della Valle del Ticino

Cristina Barbieri: Project Manager Life Insubricus, Istituto Delta Ecologia Applicata S.r.l.

Shade Amini: Assistant project manager Life Insubricus, Istituto Delta Ecologia Applicata S.r.l.

Giovanni Soldato: Erpetologo senior, Società cooperativa ELEADE

Daniele Seglie: Erpetologo senior, Società cooperativa ELEADE

Paolo Eusebio Bergò: Erpetologo senior, Società cooperativa ELEADE

Citazione raccomandata: D.Seglie, P. E.Bergò, G. Soldato, C. Barbieri, S. Amini - Studio di fattibilità del piano di reintroduzione e ripopolamento di *Pelobates fuscus* Laurenti, 1768 (Anura, Pelobatidae) (2022)

Sommario

1.	Introduzione	4
2.	Motivazioni dell'intervento nel quadro dello stato di conservazione della specie a scala biogeografica	4
3.	Inquadramento dell'intervento nelle strategie di conservazione locali, nazionali e internazionali	6
3.1.	Inquadramento nelle strategie regionali.....	6
3.2.	Inquadramento nelle strategie nazionali e internazionali.....	7
4.	Valutazione dello stato legale del taxon in oggetto	8
5.	Indagine storica finalizzata alla definizione dei parametri relativi alla specie oggetto di intervento.....	8
5.1.	Posizione sistematico-tassonomica.....	8
5.2.	Distribuzione pregressa	8
5.3.	Analisi genetiche.....	9
5.4.	Cause e periodo di declino	10
5.4.1.	Perdita delle Zone Umide	10
5.4.2.	Diminuzione dell'idoneità delle zone umide per evoluzione degli habitat	10
5.4.3.	Presenza di specie aliene.....	11
5.4.4.	Anomalie climatiche e carenza idrica	12
5.4.5.	Isolamento, depressione genetica e diminuzione della consistenza delle popolazioni.....	12
5.4.6.	Mortalità per impatto col traffico stradale	13
5.4.7.	Agricoltura e utilizzazioni forestali	13
6.	Verifica della disponibilità di fondatori e dei requisiti necessari	14
7.	Analisi dei parametri biologici	14
8.	Accertata o concreta possibilità di rimozione delle cause di estinzione locale	15
9.	Stima delle dimensioni della Minima Popolazione Vitale (MPV)	16
10.	Individuazione delle aree di ripopolamento	16
11.	Individuazione delle aree di reintroduzione.....	16
12.	Valutazione adeguatezza del quadro socioculturale.....	16
13.	Valutazione dei potenziali effetti della reintroduzione sulle diverse componenti della biocenosi	17
14.	Verifica compatibilità con altri progetti di conservazione nella stessa area.....	17
15.	Valutazione degli effetti della reintroduzione sulle popolazioni umane locali e sulle attività antropiche di interesse economico e della loro sostenibilità.....	17
	Allegati.....	18
	Bibliografia.....	18

1. Introduzione

LIFE19-NAT/IT/000883 *Insubricus* fa parte dei progetti finanziati dall'European Climate, Infrastructure and Environment Executive Agency (CINEA), nell'ambito del programma di finanziamento europeo LIFE 2014-2020 Nature and Biodiversity. Il Progetto, dal titolo "Urgent actions for long-term conservation of *Pelobates fuscus insubricus* in the distribution area", prevede interventi a favore di *Pelobates fuscus insubricus*, e del suo habitat, puntando a migliorarne sensibilmente lo stato di conservazione e fornendo le basi per una crescita delle popolazioni anche nel periodo successivo alla conclusione del LIFE.

Per incrementare la distribuzione di *Pelobates fuscus insubricus* in Piemonte e Lombardia, con la prospettiva di poterne consentire anche una successiva naturale e progressiva espansione, è stato definito un Piano di reintroduzione e ripopolamento e il relativo studio di fattibilità. Questa attività rientra all'interno dell'Azione A.3, sotto-azione 3.3 del progetto LIFE19-NAT/IT/000883 *Insubricus*.

L'obiettivo del seguente piano è la corretta e scientifica definizione delle operazioni di ripopolamento e reintroduzione del *Pelobates fuscus insubricus*, attraverso la valutazione delle componenti che sono in grado di influenzarne il successo come condizioni ambientali, genetiche, sanitarie politico-amministrative e sociali.

La specie è inserita nell'Allegato IV della Direttiva Habitat 92/43/CEE in stato prioritario e pertanto al programma si applicano i criteri per la reintroduzione e il ripopolamento di specie autoctone di cui al Decreto del 2 aprile 2020 del Ministero dell'Ambiente "Criteri per la reintroduzione e il ripopolamento delle specie autoctone di cui all'allegato D del decreto del Presidente della Repubblica 8 settembre 1997, n. 357, e per l'immissione di specie e di popolazioni non autoctone". Lo Studio di fattibilità è stato quindi redatto sulla base degli elementi indicati nell'Allegato 1 "Contenuti dello studio di fattibilità per la reintroduzione e il ripopolamento di specie autoctone" del richiamato decreto e si pone l'obiettivo di fornire gli elementi per dimostrare che la reintroduzione della specie in alcune aree del suo originario areale di distribuzione, contribuirà in modo efficace a migliorarne l'attuale stato di conservazione (art. 12, comma 2, DPR 357/97).

Nel seguente piano saranno definiti gli obiettivi, le stazioni delle popolazioni sorgente, le tecniche e le procedure di prelievo, di trasporto degli esemplari e di immissione ed individuati i siti di reintroduzione e ripopolamento. Come specificato nelle Linee guida ISPRA (AA.VV.) e nelle Linee guida IUCN/SSC (2013), verranno definiti: motivazioni, inquadramento dell'intervento nelle strategie di conservazione della specie target, dati storici e pregressi e areale di distribuzione, cause e periodo di estinzione locale, valutazione della struttura genetica di popolazione, misure sanitarie e idoneità dell'area.

2. Motivazioni dell'intervento nel quadro dello stato di conservazione della specie a scala biogeografica

Pelobates fuscus è distribuito in Europa occidentale, centrale ed orientale; ad Ovest il limite di distribuzione è nella Francia orientale, mentre ad Est la specie raggiunge Russia ed Ucraina, dove l'areale è contiguo con quello di *P. vespertinus*. A Settentrione la specie raggiunge la costa del Mare del Nord, il sud della Svezia e la costa meridionale del Mar Baltico. A Sud l'areale segue il Danubio, attraversa la Serbia, la Croazia orientale, la Bosnia-Herzegovina, la Slovenia, l'Austria, e la Germania meridionale (Dufresnes et al. 2019). Il Pelobate fosco è presente anche in Italia, dove è presente la sottospecie *P. f. insubricus* con una porzione disgiunta dell'areale nel bacino padano-veneto.

Pelobates fuscus insubricus (taxon prioritario ai sensi della Direttiva Habitat) è stata descritta nel 1873 principalmente sulla base di caratteri morfologici (Cornalia, 1873). L'areale storico comprendeva l'Italia settentrionale, oltre ad una piccola parte della Svizzera (Canton Ticino) e della Croazia (Andreone, 2006; Andreone et al., 2004, 2007; Eusebio Bergò & Seglie, 2016); attualmente l'areale di *P. fuscus insubricus* si è

considerevolmente ridotto e ricade interamente in Italia, nella pianura padano-veneta, dove sopravvive in meno di 20 località disgiunte.

La sottospecie, pur essendo segnalata in 26 Siti Natura 2000, negli ultimi 2 decenni è stata confermata con certezza solo in 15 siti nella Pianura Padano-Veneta: in Piemonte (8 siti), Lombardia (2 siti), Veneto (2 siti) ed Emilia-Romagna (3 siti): la maggior concentrazione delle popolazioni è nel settore occidentale dell'areale (Piemonte e Lombardia), prevalentemente nella regione biogeografica continentale (CON), con minima presenza in quella alpina (ALP) (Figura 1).

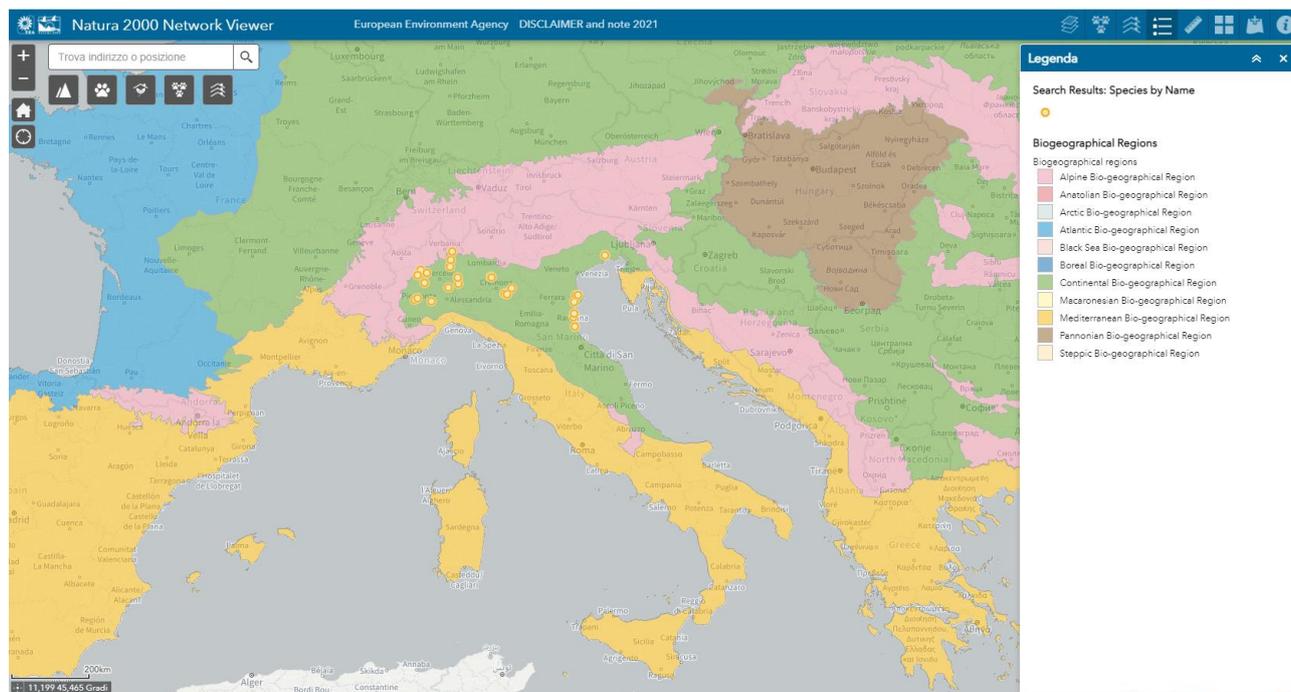


Figura 1 Distribuzione della specie *P. f. insubricus* nelle regioni biogeografiche dei Siti Rete Natura 2000 (<https://natura2000.eea.europa.eu/>)

Considerando il suo endemismo e il limitatissimo numero di popolazioni rimaste sull'intero areale, il rischio di estinzione in breve tempo è concreto, con numerose estinzioni locali negli ultimi decenni, e il progetto attua interventi urgenti e necessari per prevenire questo declino.

Il progetto LIFE Insubricus, che prevede interventi sia sulla specie che sull'habitat, mira a migliorare sensibilmente lo stato di conservazione del Pelobate fosco insubrico entro la fine del progetto, attraverso interventi di reintroduzione o ripopolamento di alcuni esemplari, la cui idoneità genetica e sanitaria è stata ritenuta adeguata, da stazioni di presenza della specie con popolazioni vitali, in stazioni ritenute ecologicamente idonee sul territorio delle Regioni Lombardia e Piemonte (Figura 2).

Lo stato di conservazione della specie per questa regione biogeografica (CON) è considerato "Cattivo U2", con tendenza "In peggioramento", secondo il 4° report ex Art. 17 Dir. Habitat (2013-2018) (<http://reportingdirettivahabitat.isprambiente.it/species-basic-search>). Secondo la Lista Rossa IUCN, la specie *Pelobates fuscus*, è in continuo declino, le popolazioni sono frammentate e composte da pochi individui, per queste ragioni viene valutata "In Pericolo (EN)" (<http://www.iucn.it/scheda.php?id=1977496546>).

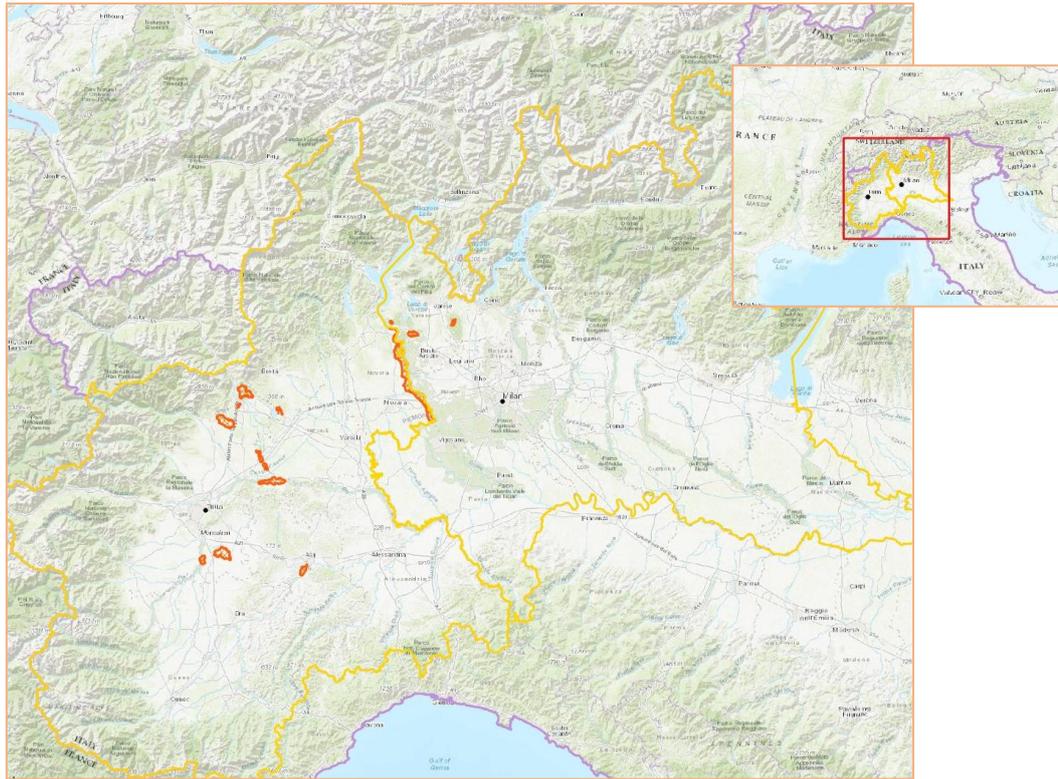


Figura 2 Localizzazione delle aree d'intervento nel progetto Life Insubricus nelle regioni Lombardia e Piemonte

3. Inquadramento dell'intervento nelle strategie di conservazione locali, nazionali e internazionali

3.1. Inquadramento nelle strategie regionali

Il Progetto mira a migliorare lo stato di conservazione di *Pelobates fuscus insubricus** in 14 siti Natura 2000 in Piemonte e Lombardia. Pertanto, secondo il programma LIFE 2018-2020 la proposta rientra nel tema "Miglioramento dello stato di conservazione di tipi di habitat o specie di interesse comunitario ai sensi delle direttive Uccelli e Habitat dell'UE in Siti Natura 2000 proposti o designati per questi tipi di habitat o specie".

Quattro Regioni (Emilia-Romagna, Lombardia, Piemonte, Veneto), in qualità di soggetti competenti in materia di gestione della Rete Natura 2000 e dei Parchi Regionali, hanno sottoscritto il loro impegno tramite la firma di una convenzione (*form A8*), garantendo la copertura dell'areale di distribuzione del *Pelobates fuscus insubricus*. Le regioni, coinvolte nell'Azione A3 (Studio di fattibilità del piano di reintroduzione e ripopolamento) e nell'Azione E3 di replicabilità del progetto, si impegnano, non solo, nella promozione e diffusione dei risultati delle azioni di progetto, ma anche nell'acquisizione di metodologie e buone pratiche per la conservazione della specie target e degli habitat di zone umide all'interno del territorio di competenza, attraverso l'integrazione delle linee guida sviluppate nel contesto dell'Azione A8 (Linee guida per la conservazione degli Anfibi) nei rispettivi PAF (*Prioritized Action Framework*) regionali.

Il PAF della Regione Lombardia, vigente per il periodo 2021-2027, approvato con delibera della Giunta Regionale n.3582/2020, prevede tra le azioni prioritarie di intervento per *Pelobates fuscus insubricus* azioni di reintroduzioni o restocking (E.3.1.1), da finanziarsi mediante fondi LIFE, SNAPs, fondi regionali, fondi privati e la realizzazione di vasche di allevamento ex situ e centri di riproduzione in ambienti semi controllati per le ovature e/o i girini salvati da deposizioni a rischio, anche mediante adattamento di strutture esistenti (E.3.1.4) da finanziarsi mediante fondi LIFE, fondi regionali.

Il PAF della Regione Piemonte (2021-2027), approvato con delibera della Giunta Regionale n. 4-2559/2020, prevede tra le azioni prioritarie da attuare per *Pelobates fuscus insubricus*, la costituzione di nuove aree idonee alla conservazione della specie, da finanziarsi mediante fondi LIFE e PSR e il miglioramento di zone umide ospitanti popolazioni di *Pelobates fuscus insubricus* e altre specie di erpetofauna in cattivo stato di conservazione (es. regolazione della presenza dell'acqua, miglioramento delle sponde, contenimento/eradicazione delle alloctone, ecc) attraverso fondi PSR.

In tale contesto il Parco Lombardo della Valle del Ticino, insieme ad un partenariato che vede presenti parchi regionali, enti di gestione e istituti di ricerca, candida nel 2019 il progetto Life Insubricus, che persegue i medesimi obiettivi, in linea con quelli definiti dai PAF regionali. Il progetto, dal titolo: "Azioni urgenti per la conservazione del *Pelobates fuscus insubricus* nell'area d'interesse" segue gli obiettivi specifici di seguito elencati:

- aumento delle popolazioni adulte esistenti;
- aumento delle aree di traslocazione con 11 nuove aree all'interno di 6 siti Natura 2000 e ripopolamento di 46 aree esistenti all'interno di 8 siti Natura 2000;
- recupero delle popolazioni localmente estinte, dopo la rimozione delle cause di estinzione;
- aumento della variabilità genetica delle singole popolazioni con la diminuzione dei fenomeni di inbreeding dovuti alla deriva genetica e ai colli di bottiglia;
- miglioramento della connettività tra le sottopopolazioni grazie al recupero e alla creazione di nuove zone umide con caratteristiche adatte alla specie che fungeranno da trampolino di lancio;
- definizione e condivisione di una linea guida e di una strategia nazionale per la conservazione delle specie;
- aumento del livello di consapevolezza nell'opinione pubblica e negli stakeholder al fine di migliorare la salvaguardia di *P. fuscus insubricus* e delle zone umide.

Gli obiettivi sono, inoltre, in linea con quelli definiti dalla Regione Lombardia, che, recependo le indicazioni del Ministero, ha sviluppato, con la collaborazione di Fondazione Lombardia per l'Ambiente (FLA), la Rete Ecologica Regionale, approvata con Deliberazione della Giunta Regionale n. VIII/10962 del 30 dicembre 2009 e riconosciuta dal Piano Territoriale Regionale come infrastruttura prioritaria (Bogliani et al., 2009). Analogamente, per il Piemonte le azioni sono in linea con la rete ecologica definita a livello normativo dalla legge regionale del 29 giugno 2009, n. 19 ed in via di implementazione.

3.2. Inquadramento nelle strategie nazionali e internazionali

Il progetto si inserisce nella strategia nazionale ed internazionale di miglioramento dello stato di conservazione di habitat e specie di interesse comunitario ai sensi delle Direttive Uccelli e Habitat dell'UE, mirate ai siti Natura 2000 proposti o designati per questi habitat tipi o specie.

Il progetto è volto a migliorare lo stato di conservazione di una specie considerata con trend negativo ("bad" U2) secondo le valutazioni complessive più recenti che gli Stati membri hanno fornito secondo l'Art. 17 della direttiva Habitat.

Rispetto alla "Strategia Nazionale per la Biodiversità" l'operazione proposta è in linea con l'Obiettivo strategico 1, che si pone di "garantire la conservazione della biodiversità, intesa come la varietà degli organismi viventi, la loro variabilità genetica ed i complessi ecologici di cui fanno parte ed assicurare la salvaguardia e il ripristino dei servizi ecosistemici al fine di garantirne il ruolo chiave per la vita sulla Terra e per il benessere umano"

La nuova Strategia europea della Biodiversità per il 2030, COM (2020) 380 final, afferma che: "Il solo modo per preservare la qualità e la continuità della vita umana sulla Terra è proteggere e ripristinare la biodiversità" ed individua come uno dei tre assi strategici la Protezione della natura e il ripristino di habitat e specie.

Inoltre, enti europei responsabili della gestione di siti Natura 2000 e partecipanti a progetti LIFE (Grosuplje – Slovenia, The Man and Nature Association, Krzywe – Polonia, Green Balkans - Bulgaria, County Administrative Board of Skåne – Svezia), così come altri enti che verranno coinvolti in corso di progetto, si rendono disponibili all'acquisizione di buone pratiche per la conservazione della specie nei propri siti (Azione E3).

4. Valutazione dello stato legale del taxon in oggetto

Il pelobate fosco è stato incluso nella categoria "In Pericolo (EN)" secondo i criteri IUCN applicati alle popolazioni italiane (Rondinini et. al., 2013) ed è considerato un taxon prioritario ai sensi della Direttiva Habitat. Inoltre, nell'ultimo rapporto nazionale secondo la stessa Direttiva Habitat (periodo 2013-2018), lo stato di conservazione della specie è valutato come "cattivo" (U2), con una tendenza complessivamente negativa anche per il futuro, in considerazione, tra l'altro, del preoccupante stato di conservazione in cui versa il suo habitat riproduttivo.

5. Indagine storica finalizzata alla definizione dei parametri relativi alla specie oggetto di intervento

5.1. Posizione sistematico-tassonomica

Le popolazioni italiane di Pelobate fosco (*Pelobates fuscus*) sono usualmente attribuite alla sottospecie *insubricus*, taxon descritto nel 1873 principalmente sulla base di caratteri morfologici (Cornalia, 1873). I risultati di un recente studio filogeografico (Crottini et al., 2007), pur sollevando dubbi sulla validità sottospecifica di *P. fuscus insubricus*, hanno evidenziato come le popolazioni italiane, racchiuse in un sottogruppo distinto appartenente al lineaggio europeo-occidentale, detengono la maggiore variabilità genetica e custodiscono aplotipi ancestrali unici. Per tali ragioni si ritiene che le popolazioni italiane rivestano un ruolo chiave per la conservazione, anche considerata la loro estrema rarefazione e l'elevato rischio di perdita di questo patrimonio genetico. Si rimanda al paragrafo relativo alla genetica del presente documento per gli aggiornamenti più recenti sulla genomica di popolazione dei nuclei italiani di *P. fuscus*.

5.2. Distribuzione pregressa

L'areale storico comprende l'Italia settentrionale, oltre ad una piccola parte del Canton Ticino e della Croazia dove la specie è presumibilmente estinta (Andreone, 2006; Andreone et al., 2004 e 2007).

P. fuscus insubricus sopravvive allo stato attuale in circa 30 località sparse nella Pianura Padana: in Piemonte, Lombardia, Veneto, Emilia-Romagna e Friuli-Venezia Giulia, in ciascuna delle quali compare con una o più popolazioni, maggiormente concentrate nel settore occidentale dell'areale (Piemonte e Lombardia).

In Piemonte sopravvive in quattro principali aree di presenza, la più importante di queste è rappresentata dall'Anfiteatro Morenico di Ivrea e dal basso corso della Dora Baltea, dove negli ultimi 15 anni sono state scoperte numerose nuove popolazioni (Eusebio Bergò P., dati inediti), seguita dal Pianalto di Poirino a sud di Torino, dall'alto corso del Ticino, comprese alcune aree risicole in provincia di Novara, mentre una popolazione relitta nel frattempo scomparsa era localizzata lungo il Tanaro (AT) (Li Vigni e Mercurio, 2007; Seglie et. al., 2014). In Lombardia è presente la più alta concentrazione di popolazioni presso i rilievi morenici del Varesotto (Eusebio Bergò et.al., 2014), mentre ulteriori segnalazioni, anche se non più confermate durante i recenti monitoraggi condotti nell'ambito del LIFE "GESTIRE 2020" (LIFE14 IPE/IT/000018), interessano la provincia di Como (Seglie et al., 2017), il medio e basso corso del Ticino (PV), la Lomellina (PV), la pianura cremonese e il corso del fiume Po e dell'Oglio (CR, MN).

Per quanto riguarda le restanti regioni italiane il pelobate è presente in pochissime stazioni dislocate in aree planiziali e soprattutto costiere. Nel Friuli-Venezia-Giulia la specie, nota solo per 4 località in epoche

storiche (Lapini, 1999), non è più stata confermata dal 1992 (Lapini, 1993); in Emilia-Romagna il pelobate è attualmente noto unicamente in due stazioni nel sistema dei biotopi costieri delle pinete del ravennate (Mazzotti et al., 2001) e presso il bosco della Mesola, nel delta del Po ferrarese (Mazzotti & Rizzati, 2001); in Veneto, infine, è stata scoperta una popolazione in buono stato di salute (Boschetti et al., 2006; Richard & Tenan, 2008) e sono stati attuati progetti di conservazione, tra i quali la costituzione di un nuovo nucleo presso Bosco Nordio nell'ambito del LIFE "Conservation of habitats and species in the Natura 2000 sites in the Po Delta" (LIFE09 NAT/IT/000110).

5.3. Analisi genetiche

Nell'ambito del progetto LIFE è stata prevista una specifica sub-azione volta a caratterizzare la strutturazione genetica delle 8 principali popolazioni di *Pelobates fuscus* al fine del programma di ripopolamento/reintroduzione previsto; le analisi hanno permesso di guidare la strategia di conservazione reintroduzione e/o rafforzamento delle popolazioni stesse.

A tale scopo, il team della società incaricata (FEM2-Ambiente) ha agito su due fronti analitici e di *data analysis* principali: 1) caratterizzazione genomica delle popolazioni e 2) analisi dei lignaggi mitocondriali e loro confronto con dati precedentemente pubblicati. In entrambi i casi, articolate analisi bioinformatiche hanno permesso di fare luce sull'attuale scenario genetico che interessa le popolazioni di *P. fuscus* target del progetto. L'approccio 1) è stato effettuato su 192 campioni rappresentativi delle 8 macro popolazioni di *P. fuscus* designate (ARS, IT2010011 "Paludi di Arsago", PIN, IT2020007 "Pineta pedemontana di Appiano Gentile", POI, IT1110035 "Stagni di Poirino-Favari", RIT, IT1120013 "Isolotto del Ritano", CAM, IT1150001 "Valle del Ticino", LGH, IT1110021 "Laghi Ivrea", MDX, IT1110047 "Scarmagno - Torre Canavese", BER, IT1130004 "Lago di Bertignano e stagno presso la strada per Roppolo") che, a seguito di estrazione e purificazione del gDNA sono stati analizzati tramite un approccio di Double digest restriction-site associated DNA (ddRADSeq). Questo ha permesso di identificare con successo un elevato numero di possibili marcatori genetici (15,422 SNPs - *Single Nucleotide Polymorphism sites*), condivisi da tutti i campioni, su cui basare le successive analisi di *Population Genomics*. Le elaborazioni bioinformatiche in sintesi hanno messo in luce i seguenti aspetti utili ai fini progettuali:

- Le 8 macropopolazioni di *P. fuscus* costituiscono altrettante unità di conservazione, essendo caratterizzate da un profilo genomico unico senza alcuna condivisione di genotipi, tranne per un individuo della macropopolazione LGH che presenta nell'analisi di Structure & Clustering, un parziale corredo genomico della macropopolazione RIT. Le macropopolazioni ARS e PIN sono le più simili, mentre le due macropopolazioni più diverse sono RIT e CAM.

- I tassi di parentela e di *inbreeding* sono risultati in generale bassi; solo le macropopolazioni RIT e LGH presentano valori leggermente elevati. La stima del flusso genico invece mostra un *pattern* di isolamento tra le macropopolazioni compatibile con le distanze geografiche tra le stesse, ad ogni modo, si esclude flusso di individui attualmente in corso tra di esse.

L'approccio 2) ha previsto l'amplificazione e il sequenziamento di una regione genetica mitocondriale (cyt b, 571 bp) per la quale erano già presenti nelle banche dati internazionali dati di confronto sia per le popolazioni italiane che per quelle della regione paleartica. Quaranta campioni, rappresentativi delle 8 macro popolazioni target del progetto sono stati oggetto delle analisi di amplificazione e sequenziamento; complessivamente, il dataset sul quale sono state effettuate le analisi di strutturazione genetica e filogeografica mitocondriale comprende 198 sequenze. I risultati salienti sono stati ottenuti mediante una ricostruzione di *haplotype network* che ha mostrato 12 aplotipi provenienti dalle 8 macro popolazioni in esame, 4 dei quali inediti (per Italia e Paleartico) se confrontati con le informazioni disponibili da bibliografia. Le popolazioni POI, CAM, e ARS sono risultate avere una maggiore diversità genetica anche dal punto di vista mitocondriale.

Considerando i risultati ottenuti, dal momento che le popolazioni appaiono autoctone e non vi sono evidenze di genotipi alloctoni, l'azione di reintroduzione e il ripopolamento può essere effettuata senza controindicazioni. Dal momento che è emersa un'elevata differenziazione delle popolazioni e un trascurabile effetto di *inbreeding*, per il piano di reintroduzione sarà utilizzato il principio di affinità, limitando gli scambi tra le popolazioni nelle aree di ripopolamento con popolazioni già esistenti; solo per le stazioni isolate ove prevista reintroduzione si opterà per l'utilizzo di fondatori provenienti dalle diverse popolazioni per aumentare la diversità genetica nelle nuove popolazioni.

5.4. Cause e periodo di declino

5.4.1. Perdita delle Zone Umide

Per la regione biogeografica continentale dal 1979 al 2010 si è registrata una perdita del 15% dei siti di riproduzione di anfibi (S.H.I., 2011).

Nelle zone moreniche dov'è presente il Pelobate fosco, molte aree umide sono scomparse a causa di drenaggi artificiali operati soprattutto in passato oppure sono state notevolmente ridotte da questo stesso fenomeno (I.P.L.A., 2017a; 2017b; WWF, 2006). In gran parte della Pianura Padana, come al Pianalto di Poirino, la scomparsa delle zone umide causata dalle bonifiche agrarie è stata molto più intensa e definitiva.

Lungo le aste fluviali la scomparsa delle zone umide è anche conseguenza di alterazioni nelle dinamiche fluviali, consistenti sia nell'ostacolo alla divagazione dei fiumi durante le piene, a causa delle opere di regimazione, sia degli interventi di sistemazione idraulica e riassetto fondiario immediatamente successivi, che portano all'occlusione immediata di stagni e lanche di neoformazione. Mentre gli ambienti fluviali dinamici presentano un elevato numero di specie e abbondanza di anfibi (Tockner et al., 2006), lungo i corsi d'acqua regolati e regimati si osserva una progressiva perdita di zone umide ed una banalizzazione delle poche rimaste (e.g. Stanford et al., 1996; Karas et al., 2005). A questa principale causa sembra attribuibile la scomparsa della popolazione di Pelobate astigiana lungo il Tanaro e quella della Dora Baltea presso Vische.

Per alcuni Siti Natura 2000 in cui erano note stazioni riproduttive di pelobate fosco già negli anni '90, la scomparsa dei siti di riproduzione è arrivata al 90%: nella ZSC Stagni di Poirino-Favari (IT1110035) si è passati da 10 stazioni riproduttive note (Fortina & Marocco, 1994) a 2 attuali (Seglie et al., 2019), nella ZSC Valle del Ticino Piemontese (IT1150001) da 23 nel 1989 (Grossembacher, 1995) all'unico sito attuale (Seglie et al., 2014). Per gli altri Siti le lacune conoscitive sul numero effettivo di stazioni /popolazioni presenti prima degli anni 2000 non permettono di quantificare il declino, ma è ipotizzabile un andamento simile.

La scomparsa delle zone umide è quindi la conseguenza diretta delle modificazioni territoriali e delle dinamiche naturali indotte dall'uomo, come le regimazioni idriche, le bonifiche agrarie e il consumo di suolo. A queste si aggiunge la naturale evoluzione delle stesse legata ai processi di interrimento, che nel caso di piccole raccolte d'acqua temporanee può essere anche piuttosto veloce.

5.4.2. Diminuzione dell'idoneità delle zone umide per evoluzione degli habitat

P. fuscus insubricus è considerata una specie pioniera (Andreone, 2001), per questo la naturale evoluzione ecologica di molte zone umide determina la perdita di vocazionalità del sito acquatico. In particolare, i fenomeni di predazione delle larve da parte di macroinvertebrati acquatici, che aumentano con il grado di maturità degli habitat, sembrano giocare un ruolo chiave nella sopravvivenza delle popolazioni di Pelobate fosco (Sindaco et al., 2013). Anche la scomparsa del Pelobate dagli ambienti fluviali più regolati e regimentati (Po e Tanaro) è spesso la conseguenza della progressiva perdita di idoneità dei siti di riproduzione, unita alla mancanza di ambienti di neoformazione causata dall'alterazione delle dinamiche fluviali (Seglie, 2018); questa problematica interessa anche gli ambienti palustri nelle aree moreniche, dove

tuttavia è in qualche modo mitigata dal carattere temporaneo delle zone umide di questi contesti ambientali, che permette il mantenimento di caratteristiche tipiche degli ambienti di neo-formazione.

Presso lo stagno di Cascina Bellezza (IT1110035), ad esempio, senza l'insorgere di minacce evidenti, la specie ha subito un costante declino (da 37 individui del 2003 ai soli 11 individui nel 2008) imputabile alla perdita di vocazionalità per successione ecologica; lo stesso potrebbe aver causato la cospicua riduzione (valutata solo con metodi semi-quantitativi) di alcune popolazioni nelle aree moreniche (Eusebio Bergò et al., 2017; Eusebio Bergò, 2018) e presso il sito di riproduzione lungo il fiume Tanaro (I.P.L.A., 2019). Ai laghi d'Ivrea (IT1110021) il pelobate occupava all'inizio degli anni 2000 tre stagni principali, con popolazioni riproduttive stabili e tre stagni secondari con popolazioni satelliti (Andreone et al., 2004). A distanza di quasi un ventennio permane un'unica popolazione vitale presso il Maceratoio di Cascinette (Eusebio Bergò, 2018), sopravvissuta grazie anche a interventi di ripristino, ripopolamento e gestione. Questo sito, di origine antropica, sorge in un contesto agricolo pianiziale "aperto", mentre i restanti sono costituiti da stagni naturali localizzati fra i rilievi collinari a copertura boschiva pressoché continua. Fra le principali cause di perdita di idoneità di questi ultimi, si riconosce un eccessivo sviluppo della vegetazione forestale che ha causato un progressivo incremento dell'ombreggiamento sugli stagni (Stagno Moncrava, Maceratoio del Rettore). Tale aspetto è spesso accompagnato da altri fattori di pressione concomitanti quali ad esempio: prolungato periodo di siccità (Stagno del Bersaglio), presenza di specie aliene (Palude della Gaia) e alterazione morfologica e idrologica dell'habitat per mano dell'uomo (Stagno del Saudino).

5.4.3. Presenza di specie aliene

La presenza di specie aliene, in particolare ittiofauna e astacofauna che esercitano predazione diretta su uova e larve, è la seconda causa del declino degli anfibi in Italia (SHI, 2011). Se da una parte le preferenze ambientali del Pelobate fosco in subrico in favore di habitat fortemente temporanei, che si discostano radicalmente da quelle della specie nominale a diffusione europea, riducono consistentemente i rischi di predazione da parte dei pesci, lo stesso non si può dire per specie in grado di resistere a periodi di asciutta come il gambero della Louisiana *Procambarus clarkii*, il quale ha un impatto negativo sulle comunità acquatiche native (Gherardi & Panov, 2009), compresi gli anfibi che possono subire veri e propri tracolli (Rodriguez et al., 2005) a causa della predazione diretta sulle larve (Cruz et al. 2006, Ficetola et al. 2011).

A titolo di esempio, presso il maceratoio di Cascinette (IT1110021), dove il gambero della Louisiana ha recentemente colonizzato tre piccoli stagni, l'effetto della predazione è evidente su quasi tutte le larve di pelobate, le quali presentano evidentissimi sfregi e mutilazioni sulla coda (Eusebio Bergò, oss. pers., 2020). L'impatto di *P. clarkii* è stato valutato in dettaglio presso lo stagno di Cascina Bellezza (IT1110035) realizzato nel 2001 e monitorato annualmente con barriere dal 2005 fino ad oggi: in seguito alle azioni di allevamento in semi-cattività delle larve (Sindaco et al., 2013) che avevano permesso alla popolazione di crescere fino ai 151 individui adulti del 2012, dopo l'arrivo del gambero della Louisiana (per colonizzazione spontanea dovuta alla persistente presenza di acqua) si è osservato un netto e progressivo declino della popolazione, fino ai 17 individui del 2019 (Seglie, 2019). Alla Palude della Gaia (IT1110021) a seguito della comparsa del gambero della Louisiana per colonizzazione dal limitrofo bacino lacustre, dove sussiste una popolazione sorgente molto consistente, non è più stato udito alcun canto riproduttivo durante i monitoraggi bioacustici successivi (Eusebio Bergò, dati inediti).

Analogamente l'ittiofauna alloctona (per colonizzazione spontanea dal reticolo idrico) ha causato la quasi scomparsa della popolazione di Pelobate presente presso cascina Lai negli anni 2006-2008; sempre nell'ambito della medesima ZSC IT1110035 (Gruppo Monitoraggio Pelobates, 2009), solo la prolungata asciutta dello stagno (Sindaco et al., 2013) ha permesso l'eliminazione dell'ittiofauna alloctona e la ripresa della popolazione, testimoniata dalla cattura di 107 individui nel corso del monitoraggio successivo svolto nel 2019 con barriere parziali (Seglie, 2019).

5.4.4. Anomalie climatiche e carenza idrica

Le zone umide temporanee, in virtù della loro scarsa profondità e del loro idroperiodo intermittente, sono molto più soggette agli impatti causati dai cambiamenti climatici (variazione dei pattern di temperatura e precipitazione). Nei climi mediterranei questi ambienti sono minacciati soprattutto dalla riduzione delle precipitazioni e dalle siccità prolungate legate al cambiamento climatico (Junk et al., 2013). Questo fenomeno, per esperienza degli autori, si osserva anche nelle regioni a clima temperato umido che caratterizza le regioni del nord, dove sopravvivono la maggior parte delle popolazioni italiane di pelobate fosco. In queste regioni si osservano carenze idriche prevalentemente dovute ad un ritardo delle precipitazioni primaverili, con una tendenza al protrarsi della stagione secca invernale che colpiscono prevalentemente la delicata fase di deposizione e schiusa delle uova.

La temperatura e l'idroperiodo giocano un ruolo cruciale per lo sviluppo larvale degli anfibi e sono direttamente collegati all'abbondanza delle popolazioni (Utsch et al. 1999). Per questo ritardi eccessivi nell'allagamento, come asciutte precoci, possono influire negativamente sulla schiusa e sulla metamorfosi, inficiando il successo riproduttivo delle popolazioni di anfibi, fino ad annullarlo completamente.

Pur essendo difficile quantificare l'impatto di tale minaccia sul declino della specie target, le indagini più recenti (Eusebio Bergò et al., 2013; 2016, 2017; Eusebio Bergò, 2014, I.P.L.A, 2017a) hanno permesso di osservare come fenomeni di siccità prolungata, asciutte precoci o ritardi nell'allagamento primaverile, siano tali da compromettere parzialmente o completamente il successo riproduttivo delle sub-popolazioni di Pelobate fosco in svariati siti fra quelli monitorati negli ultimi anni, annoverando questa fra le cause che hanno portato alla scomparsa di alcune popolazioni. Studi modellistici mirati a comprendere gli effetti del cambiamento climatico sugli anfibi in Italia hanno previsto che per *Pelobates fuscus* la perdita di habitat idonei nelle celle di presenza attuale sarà totale e di conseguenza, in assenza di dispersione, questa specie andrà inesorabilmente incontro ad estinzione (D'Amen et al., 2011).

Problematica analoga per quanto riguarda gli effetti sulla biologia riproduttiva degli anfibi, è quella dei cambiamenti nelle tecniche colturali legate alla risicoltura, le quali non seguono più periodi di adacquamento e asciutta compatibili con la idrofauna degli ambienti umidi temporanei, come invece avveniva seguendo le pratiche tradizionali. Le risaie rappresentavano infatti un surrogato degli acquitrini naturali ai quali molte specie di anfibi, fra le quali il pelobate fosco, si erano perfettamente adattate. La semina in asciutta e ridotti periodi di sommersione non consentono più l'utilizzo di questi ambienti da parte della batracofauna e di molte altre specie animali.

5.4.5. Isolamento, depressione genetica e diminuzione della consistenza delle popolazioni

L'alterazione idrologica ed ecologica degli habitat acquatici comporta inevitabilmente la diminuzione delle popolazioni di anfibi o comunque un'alterazione nella struttura di comunità, dove a farne le spese sono generalmente le specie più sensibili, o più esigenti, come il Pelobate fosco. Popolazioni residue di piccole dimensioni, specialmente se isolate, rischiano l'estinzione a causa di fattori stocastici e per l'accentuazione progressiva di fenomeni di *inbreeding*. La soglia sotto alla quale tale rischio diviene irreversibile è definita Minima Popolazione Vitale (MPV), che per il pelobate fosco italiano è stimata cautelativamente di circa 50 individui adulti, con riferimento a situazioni reali analizzate in ambito piemontese (Eusebio Bergò et al., 2011). Tale previsione sembra aver avuto conferma in almeno due casi documentati di estinzione molto recente: una riguarda l'unica popolazione astigiana presso la ZSC IT1170003 "Stagni di Belangero" (Seglie et al., 2015; IPLA, 2019), che all'ultimo censimento del 2009 contava solo più 14 effettivi (Li Vigni e Mercurio, 2007), l'altra riguarda la popolazione dello stagno del Bersaglio presso la ZSC IT1110021 dei "Laghi di Ivrea" che durante il monitoraggio del 2014 contava 16 esemplari adulti (Eusebio Bergò, 2014 e 2018). Esempi di recupero da situazioni critiche con popolazioni ridotte scese al di sotto della MVP si hanno esclusivamente per situazioni dove si è intervenuti per tempo e con successo, mediante azioni di ripristino della funzionalità degli habitat e/o azioni di ripopolamento o supporto demografico, come ad esempio è avvenuto allo stagno di Cascina Bellezza (IT1110035) e al Maceratoio di Cascinette (IT1110021).

Piccole popolazioni riescono a sopravvivere a lungo termine solo qualora siano strutturate in meta-popolazioni, ovvero sussistano meccanismi di scambio di individui fra singoli nuclei demografici. In tali condizioni le avversità che colpiscono una popolazione possono più facilmente essere compensate da condizioni più favorevoli a carico delle restanti, attraverso fenomeni di migrazione e ri-colonizzazione. Per quanto riguarda specie poco vagili, come risulta essere il Pelobate fosco (Eusebio Bergò, Seglie, Soldato, 2020), gioca un ruolo molto importante la distanza fra i siti idonei alla riproduzione, che non deve essere eccessiva.

5.4.6. Mortalità per impatto col traffico stradale

Questa problematica è ritenuta una grave minaccia per la sopravvivenza delle popolazioni europee di *Pelobates fuscus*. Per quanto riguarda le popolazioni italiane, quello del traffico stradale è un problema che era più evidente in passato, quando le popolazioni erano ancora abbastanza consistenti. Attualmente sembra non avere più effetto ma in realtà ciò è dovuto al solo fatto che le popolazioni di *Pelobates fuscus insubricus* si sono così tanto ridotte da minimizzare la probabilità di impatto fra un veicolo in transito e un rospo della vanga casualmente presente sulla stessa strada, salvo le situazioni in cui strade caratterizzate da un certo traffico siano situate a stretto ridosso di siti riproduttivi, come recentemente riscontrato per una stazione lungo la Dora Baltea (Eusebio Bergò, 2020).

5.4.7. Agricoltura e utilizzazioni forestali

Anche per quanto riguarda l'agricoltura si ha ragione di ritenere che il grosso danno appartenga al passato, al tempo delle piccole e grandi bonifiche e agli inizi della meccanizzazione che ha portato alla distruzione di molti elementi del paesaggio tradizionale per consentire l'estensione delle superfici coltivabili e la riduzione dei margini. Questa trasformazione ha portato alla rarefazione delle aree umide planiziali già discussa nel primo paragrafo di questo capitolo. Il fenomeno più di recente è culminato nel cambiamento delle pratiche colturali legate alla risicoltura, in quanto le risaie dapprima hanno incrementato la disponibilità di ambienti acquitrinosi adatti per gli anfibi ma in seguito, recentemente, sono state trasformate in trappole ecologiche. Questa problematica è stata affrontata nel paragrafo dedicato alla carenza idrica per analogia con gli effetti dei cambiamenti climatici.

Un certo rischio di impatto e mortalità con il Pelobate fosco è inoltre attribuibile alle lavorazioni dei terreni (scasso, aratura, erpicatura, discatura, ripuntatura, semina, rinalzata, ecc.), se si considerano l'attitudine fossoria e scarsa mobilità della specie, che lo portano ad interrarsi fra i seminativi qualora lo stagno riproduttivo sorga in un contesto agricolo. Pur non esistendo studi al riguardo che dimostrino l'effettivo impatto delle lavorazioni agricole sul Pelobate fosco, esempi concreti per quanto concerne questo potenziale rischio sono: il Maceratoio di Cascinette presso i Laghi di Ivrea (IT1110021), gli Stagni di Poirino-Favari (IT1110035) ed in parte anche l'area risicola del novarese lungo la sponda del Ticino (IT1150001) e gli Stagni di Belangero (IT1170003). Per quanto riguarda le Paludi di Arsago (IT 2010011) il problema non sussiste in quanto le aree agricole non boscate nei dintorni degli stagni sono tutte gestite a prato stabile. Non è dato sapere inoltre quale sia il rapporto costi benefici dell'agricoltura sulla conservazione della specie, in quanto la lavorazione dei terreni, sul fronte opposto, è ciò che li mantiene sciolti e più facilmente scavabili a beneficio dell'attività fossoria.

Ulteriori effetti dell'agricoltura consistono nel favorire i processi di interrimento dovuti al maggior dilavamento dei terreni nudi lavorati e al trasporto solido (a carico soprattutto delle frazioni più fini) dai campi verso le raccolte d'acqua. Questo fenomeno si accentua tanto più l'aratura si avvicina al corpo idrico situato al margine del campo (ad esempio fossati o maceratoi), talora fino a rivoltare le zolle direttamente in acqua. Altri effetti possono essere quelli legati all'impiego di pesticidi e fertilizzanti, sia in quanto possono avere interazione diretta con gli esemplari interrati, sia per effetto della solubilizzazione e accumulo di tali sostanze nelle acque degli stagni, dove possono colpire gli stadi larvali.

Per quanto attiene la gestione forestale sono state riscontrate in tre occasioni pratiche di esbosco incompatibili e responsabili dell'accelerazione dei fenomeni di interrimento di stagni temporanei utilizzati dal Pelobate fosco come habitat riproduttivo (IT1110047) oppure l'utilizzo del letto asciutto dello stagno per l'accumulo di tutte le ramaglie (IT1110021).

6. Verifica della disponibilità di fondatori e dei requisiti necessari

Per acquisire indicazioni utili per gli interventi di *restocking* e per individuare i criteri da tenere in considerazione per il recupero della popolazione sorgente, si è tenuto conto delle linee guida nazionali "Linee guida per l'immissione di specie faunistiche" (ISPRA, 2007) ed internazionali "Guidelines for reintroductions and other conservation translocations" (IUCN/SSC, 2013) disponibili.

Affinché le azioni di *restocking* abbiano successo è necessario introdurre il maggior numero di larve (e/o ovature) minimizzando l'impatto sulle popolazioni sorgenti. Le precedenti sperimentazioni gestionali e studi a lungo termine sul Pelobate fosco riferiscono massimi livelli di mortalità al momento della schiusa delle ovature poiché in questa fase le piccolissime larve sono molto vulnerabili e la pressione predatoria può raggiungere tassi del 100%. Per questo motivo, la protezione delle uova appena deposte e delle larve nei primi stadi di sviluppo è un intervento fondamentale per contrastare il declino delle popolazioni naturali e per rendere efficaci le operazioni di ripopolamento, massimizzando il successo riproduttivo.

Con la riduzione artificiale della mortalità nella fase di schiusa e sviluppo larvale, si ha la possibilità di attingere ad un numero molto elevato di larve (che coi tassi di predazione naturale sarebbero verosimilmente morte) da utilizzare per l'autoripopolamento o il ripopolamento/reintroduzione in altri siti, senza recare danno alle popolazioni sorgente. Inoltre, considerando che nel Progetto LIFE Insubricus, in tutte le popolazioni sorgente saranno effettuati anche interventi di allevamento in semi-cattività delle larve, anche queste beneficeranno di un incremento del successo di metamorfosi.

Per quanto riguarda le popolazioni sorgente, il monitoraggio *ante-operam* previsto dal Progetto LIFE (Azione A6) ha permesso di quantificare l'abbondanza delle popolazioni attualmente presenti nell'area di studio; le popolazioni più consistenti si trovano nelle ZSC Paludi di Arsago e Stagni di Poirino-Favari che constano rispettivamente di oltre 1000 individui adulti (Paludi di Arsago) e 448 (Stagni di Poirino-Favari); le popolazioni più ridotte sono quelle della ZSC Parco Pineta (14 individui) e Lago di Bertignano (20 individui). Il metodo di prelievo di ovature e allevamento in semi-cattività non impatta, quindi, in alcun modo sulle popolazioni sorgente, neanche su quelle più esigue, pertanto vi sono i requisiti necessari alle attività di ripopolamento/reintroduzione secondo il piano proposto che tiene conto delle indagini genetiche effettuate appositamente.

7. Analisi dei parametri biologici

Pelobates fuscus insubricus è una specie che predilige zone di pianura e di bassa collina con suoli giovani a tessitura sabbiosa (facilmente scavabili) e ricche di acqua profonda e stagnante (o poco mossa) che crea le condizioni idrologiche e pedologiche favorevoli allo sviluppo larvale e alla fase adulta fossoria. Le piane alluvionali e le cinture moreniche, nelle quali la dinamica fluviale e le condizioni morfologiche imposte dai rilievi collinari favoriscono la formazione di zone umide, rappresentano infatti attualmente il contesto di sopravvivenza delle più importanti popolazioni di *P. f. insubricus*.

La specie ha attitudine pioniera, prediligendo zone umide aperte di recente formazione e temporanee, caratterizzate dall'alternanza di un periodo di sommersione, seguito da un periodo di asciutta più o meno esteso. *P. f. insubricus* apprezza infatti ambienti instabili, effimeri, con forte oscillazione di livello e rapida sommersione, in cui la fase acquatica si estenda solo per il tempo necessario al compimento della metamorfosi. Dove l'acqua permane troppo a lungo, o il sito è permanente, il pelobate sembra rarefarsi e abbandonare i siti riproduttivi (Andreone et al., 1993). Queste preferenze sono dovute al fatto che il

prosciugamento periodico degli stagni impedisce l'instaurarsi di comunità di potenziali predatori delle larve quali pesci, crostacei o grosse larve di insetti acquatici (coleotteri, odonati, emitteri, ecc.). Inoltre, la variabilità dell'idroperiodo favorisce le popolazioni di pelobate perché, quando quest'ultimo incrocia i requisiti del ciclo vitale della specie, riduce anche i fenomeni di competizione con altre specie di anfibii (Eusebio Bergò et al., 2012). La presenza di numerose aree umide con differenti caratteristiche idrologiche e morfologiche, tra loro interconnesse, rappresenta il presupposto ideale per l'instaurazione di meccanismi di metapopolazione che sono alla base della capacità di resilienza di questa specie. In un panorama di precipitazioni stagionali estremamente variabile di anno in anno, sempre più frequentemente caratterizzate da fenomeni estremi in conseguenza ai cambiamenti climatici, la disponibilità di aree umide con differenti caratteristiche idrologiche (siti temporanei di breve, medio e lungo periodo) consente infatti il verificarsi di condizioni idrologiche ottimali, tutti gli anni, in almeno alcune delle aree umide disponibili.

Per quanto riguarda l'habitat terrestre, *P. f. insibricus* privilegia matrici ambientali ben conservate con vaste aree boschive alternate ad aree aperte prative o agricole, con ridotti livelli di urbanizzazione.

Si tratta di una specie prettamente notturna e con abitudini fossorie: durante le ore diurne esso rimane infatti interrato. L'interramento è possibile grazie ad alcune particolari caratteristiche della specie: il corpo di forma globulare con arti relativamente corti e la presenza di speroni metatarsali situati sugli arti posteriori che, durante il movimento del corpo e degli arti stessi, causano lo spostamento dei granuli di terra o sabbia permettendo appunto il sotterramento dell'individuo. Anche il cranio osseo e corazzato rappresenta un adattamento all'interramento, in quanto protegge l'animale da pressioni più elevate rispetto a quelle dell'ambiente esterno. I girini, al contrario degli adulti, sono prevalentemente diurni: durante le ore di luce risalgono la colonna d'acqua per scaldarsi e per nutrirsi di foglie e detriti vegetali (Andreone et al., 1993).

Per quanto riguarda l'attività riproduttiva, questa è concentrata nei giorni dopo le prime piogge primaverili, quando i pelobati raggiungono le zone umide. Gli adulti compiono migrazioni di breve durata con andamento discontinuo caratterizzato da picchi massimi di attività sia in entrata sia in uscita dagli stagni, coincidenti con le giornate di più intense precipitazioni. Per queste ragioni *P. f. insibricus* è ritenuta una specie a riproduzione "esplosiva" (Eusebio Bergò et al., 2013).

I maschi raggiungono i siti riproduttivi per primi, mentre le femmine giungono in un secondo momento, attratte dai canti intonati sott'acqua dai maschi. In seguito all'accoppiamento, di tipo inguinale, la femmina depone un'ovatura composta mediamente da 1.200-3.400 uova, poste all'interno di cordoni gelatinosi molto lassi, lunghi circa 1 m e ancorati alla vegetazione acquatica. La riproduzione avviene nell'arco di una settimana, trascorsa la quale entrambi i sessi ritornano alla vita terrestre (Andreone et al., 1993).

Il Pelobate fosco presenta una particolare biologia riproduttiva caratterizzata da un grande investimento speso nella fase larvale: i girini, dopo circa tre mesi di vita, raggiungono notevoli dimensioni, anche di 10-12 cm coda compresa, permettendo ai giovani di metamorfosare con una dimensione pari ad un terzo del peso degli adulti nel caso dei maschi e di un quinto nel caso delle femmine (Eusebio Bergò et al., 2013). Compiuta la metamorfosi, i giovani pelobati lasciano l'ambiente acquatico e si interrano nel terreno, per abbandonarlo solo durante le umide ore notturne per alimentarsi.

8. Accertata o concreta possibilità di rimozione delle cause di estinzione locale

La strategia di conservazione messa a punto e perfezionata nell'ambito del precedente progetto *Species Per Aquam* (SPA) è fondata su tre assi principali, fra loro integrati e concorrenti a perseguire lo scopo di conservazione della specie e del suo habitat riproduttivo:

- 1) Interventi di ripristino, potenziamento e creazione di nuove zone umide

- 2) Azioni di supporto demografico (ripopolamento e reintroduzione)
- 3) Monitoraggio

Questi tre gruppi di azioni, assi portanti del Progetto LIFE Insubricus, consentono di affrontare e risolvere le principali minacce elencate in precedenza, ripristinare condizioni ambientali favorevoli, ricostituire strutture demografiche idonee e dimensioni delle popolazioni sufficienti a garantire la sopravvivenza della specie, richiedendo nel seguito semplici azioni di gestione e controlli mirati a seguire l'evolvere della situazione.

9. Stima delle dimensioni della Minima Popolazione Vitale (MPV)

La soglia sotto alla quale tale rischio diviene irreversibile è definita Minima Popolazione Vitale (MPV), che per il pelobate fosco italiano è stimata cautelativamente di circa 50 individui adulti, con riferimento a situazioni reali analizzate in ambito piemontese (Eusebio Bergò et al., 2011). Tale previsione sembra aver avuto conferma in almeno due casi documentati di estinzione molto recente: una riguarda l'unica popolazione astigiana presso la ZSC IT1170003 "Stagni di Belangero" (Seglie et al., 2015; IPLA, 2019), che all'ultimo censimento del 2009 contava solo più 14 effettivi (Li Vigni e Mercurio, 2007), l'altra riguarda la popolazione dello stagno del Bersaglio presso la ZSC IT1110021 dei "Laghi di Ivrea" che durante il monitoraggio del 2014 contava 16 esemplari adulti (Eusebio Bergò, 2014 e 2018). Esempi di recupero da situazioni critiche con popolazioni ridotte scese al di sotto della MVP si hanno esclusivamente per situazioni dove si è intervenuti per tempo e con successo, mediante azioni di ripristino della funzionalità degli habitat e/o azioni di ripopolamento o supporto demografico, come ad esempio è avvenuto allo stagno di Cascina Bellezza (IT1110035) e al Maceratoio di Cascinette (IT1110021).

10. Individuazione delle aree di ripopolamento

Le aree di ripopolamento corrispondono a tutte le aree di presenza certa e recente nell'area di intervento del progetto LIFE Insubricus; nel dettaglio i siti della Rete Natura 2000 oggetto di Ripopolamento sono: IT2010011 "Paludi di Arsago", IT2020007 "Pineta pedemontana di Appiano Gentile", IT1150001 "Valle del Ticino", IT1120013 "Isolotto del Ritano", IT1110035 "Stagni di Poirino-Favari", IT1130004 "Lago di Bertignano e stagno presso la strada per Roppolo", IT1110021 "Laghi Ivrea", IT1110047 "Scarmagno - Torre Canavese (morena destra Ivrea)"

11. Individuazione delle aree di reintroduzione

Le aree di reintroduzione corrispondono ad alcuni siti della Rete Natura 2000 inclusi nella distribuzione storica della specie, vicini ad aree di presenza nota e con habitat idonei ed analoghi a quelli utilizzati dalla specie nelle aree limitrofe; per tutte le aree di reintroduzione erano disponibili informazioni recenti sulle specie di anfibi presenti e sono state oggetto di uno specifico monitoraggio ex ante volo ad aggiornare il quadro conoscitivo della batracofauna presente.

Nel dettaglio i siti Rete Natura 2000 scelti per la reintroduzione sono: ZSC IT201000 "Sorgenti del Rio Capricciosa" ZPS/ZSC IT1110050 "Mulino Vecchio (Fascia fluviale del Po)", ZPS/ZSC IT1110019 "Baraccone (confluenza Po – Dora Baltea)", IT1170003 "Stagni di Belangero", IT1110025 "Po morto di Carignano" e ZSC "Boschi e paludi di Bellavista".

12. Valutazione adeguatezza del quadro socioculturale

Riconoscendo il ruolo fondamentale della cittadinanza in generale e, nello specifico degli stakeholder primari nella tutela e gestione delle aree naturali protette, è necessario programmare una mirata attività di comunicazione e disseminazione dell'attività di *restocking* al fine di:

- Garantire la corretta attuazione delle azioni di conservazione e il raggiungimento dei risultati attesi nel breve e lungo termine;
- Coinvolgere la cittadinanza e gli stakeholder in azioni e attività che possano contribuire e/o favorire la tutela del Pelobate fosco;
- Realizzare, soprattutto nei territori interessati dalle attività di *restocking*, alcuni workshop tematici rivolti ai seguenti gruppi di interesse:
 - gestori diretti ed indiretti del territorio (Enti, imprese e cooperative consorzi di amministrazione dei beni di Uso Civico, cooperative e imprese agricole, associazioni agricole...);
 - scuole, volontari, associazioni ambientaliste;
 - cittadinanza.

13. Valutazione dei potenziali effetti della reintroduzione sulle diverse componenti della biocenosi

La specie, spesso sintopica con le altre specie di anfibi tipiche degli habitat acquatici temporanei, non ha effetti potenzialmente negativi sulle altre componenti della biocenosi acquatica; non sono noti, infatti, fenomeni di competizione e predazione rilevanti sugli altri *taxa* tipici delle zone umide temporanee. Al contrario, la specie può essere definita a buon titolo specie ombrello di specie di anfibi rari o minacciati (quali il Tritone crestatto italiano, *Triturus carnifex*, o il tritone punteggiato italiano, *Lisotriton vulgaris meridionalis*).

14. Verifica compatibilità con altri progetti di conservazione nella stessa area

Tutte le zone umide di intervento sono aree di elevata vocazionalità per la batracofauna, e di conseguenza gli interventi di ripopolamento/reintroduzione previsti sono già auspicati nei Piani di Gestione (PdG) della maggior parte delle ZSC/ZPS coinvolte. Non si rilevano al momento altri progetti di conservazione incompatibili con il programma di ripopolamento/reintroduzione previsto; a tal proposito, è da sottolineare come il progetto LIFE in molte aree sia la prosecuzione di altri progetti di conservazione attuati negli ultimi anni a scala locale (Progetti con fondi del PSR, progetti finanziati dagli Enti di Gestione, Progetto "Species Per Aquam" finanziato da Fondazione Cariplo).

15. Valutazione degli effetti della reintroduzione sulle popolazioni umane locali e sulle attività antropiche di interesse economico e della loro sostenibilità

L'introduzione di *Pelobates fuscus insubricus* nei siti indetificati non incide con le attività antropiche locali e non è oggetto di possibili conflitti di natura economica.

Allegati

LINEE GUIDA PER LA GESTIONE E CONSERVAZIONE DEL PELOBATE FOSCO INSUBRICO (Cariplo, 2019)

Bibliografia

- Andreone F. (2001). *Pelobates fuscus insubricus*: distribuzione, biologia e conservazione di un taxon minacciato. Piano d'azione - Action Plan, Progetto LIFE-NATURA 1998 "Azioni urgenti per la conservazione di *Pelobates fuscus insubricus*" B4-3200/98/486 (pp. 61–114).
- Andreone F. (2006). *Pelobate fosco / Spadefoot toad*. In R. Sindaco, G. Doria, E. Razzetti & F. Bernini (Eds.). *Atlante degli anfi e dei Rettili d'Italia* (pp. 292–297). Firenze: Edizioni Polistampa.
- Andreone F., Fortina R., Chiminello A. (1993). *Storia naturale, ecologia e conservazione del Pelobate insubrico, Pelobates fuscus insubricus*.
- Andreone F., Eusebio Bergò P., Bovero S. & Gazzaniga E. (2004). On the edge of extinction? The spadefoot *Pelobates fuscus insubricus* in the Po Plain, and a glimpse at its conservation biology. *Italian Journal of Zoology*, 71, 61–72.
- Andreone F., Gentili A., Scali S. (2007). *Pelobates fuscus* (Laurenti, 1768). In: *Fauna d'Italia - Vol. XLII - Amphibia*. Lanza, B., Andreone, F., Bologna, M. A., Corti, C., Razzetti, E. (Eds). Calderini Editore, Ozzano dell'Emilia (BO). (pp. 352-362).
- Bogliani G., Bergero V., Brambilla M., Casale F., Crovetto G.M., Falco R., 2009. *Aree prioritarie per la biodiversità nelle Alpi e Prealpi lombarde*. Fondazione Lombardia per l'Ambiente e Regione Lombardia, Milano.
- Boschetti E., Richard J. & Bonato L. (2006). Una popolazione relitta di *Pelobates fuscus insubricus* in un sito litoraneo veneto (Amphibia: Pelobatidae). *Gortania. Atti Museo Friul. di Storia Nat.* 27. 339-345.
- Cornalia E. (1873). Sul *Pelobates fuscus* trovato per la prima volta nei dintorni di Milano. *Rendiconti R. Istituto Lombardo Sci. Lett. Classe Sci. Fis. Mat. Milano*, 6 - Ser. 2 (pp. 295-299).
- Crottini A., Andreone F., Kosuch J., Borkin L. J., Litvinchuk S. N., Eggert C., Veith M. (2007). Fossorial but widespread: the phylogeography of the common spadefoot toad (*Pelobates fuscus*), and the role of the Po Valley as a major source of genetic variability. *Molecular ecology*, 16(13), 2734–54.
- Cruz M. J., Rebelo R., Crespo E. G. (2006). Effects of an introduced crayfish, *Procambarus clarkii*, on the distribution of south western Iberian amphibians in their breeding habitats. *Ecography* 29: 329–338.
- D'amen M., Bombi P., Pearman P. B., R. Schmatz D.R., Zimmermann N. E., Bologna M. A. (2011). Will climate change reduce the efficacy of protected areas for amphibian conservation in Italy? *Biological Conservation* 144 (2011) 989–997.
- Eusebio Bergò P. (2014). "Potenziamento del sito riproduttivo di *Pelobates fuscus insubricus* presso lo stagno del Bersaglio" – Comune di Chiaverano (TO). PSR 2007-2013 Misura 323 "Tutela e riqualificazione del patrimonio rurale" – Azione 2: Monitoraggio.
- Eusebio Bergò P. (2018). SIC IT1110021 "Laghi d'Ivrea". Interventi per la conservazione del Pelobate fosco (*Pelobates fuscus insubricus*), del Gambero di fiume (*Austropotamobius pallipes*) e degli Aneti paludosi ad *Alnus glutinosa* (habitat 91E0). Studio di Fattibilità e proposta di interventi. Programma di Sviluppo Rurale (PSR) 2014-2020. Operazione 4.4.3 "Salvaguardia, ripristino e miglioramento della biodiversità". Città Metropolitana di Torino.

- Eusebio Bergò P. (2020). Monitoraggio idro-batracologico e attuazione di azione dirette di conservazione per il Pelobate fosco italiano (*Pelobates fuscus insubricus*) presso il SIC IT1120013 “Isolotto del Ritano (Dora Baltea)”. Programma di Sviluppo Rurale (PSR) 2014-2 020 - Operazione 4.4.3 “Salvaguardia, ripristino e miglioramento della biodiversità”. Ente Aree Protette del Po e della Collina Torinese. Relazione finale.
- Eusebio Bergò P., Andreone F., Clemenzi S., 2011. Primi dati di sopravvivenza ed utilizzo della PVA come strumento di conservazione di *Pelobates fuscus* nel nord Italia. *Pianura*, 27: 95-98.
- Eusebio Bergò P., Seglie D., Soldato G. (2012). Monitoraggio e studio batracologico, lavori di realizzazione metanodotto Snam Somma Lombardo-Besnate. SIC IT2010011 “Paludi di Arsago”, relazione finale.
- Eusebio Bergò P., Seglie D., Soldato G. (2013). Lavori di realizzazione metanodotto SNAM Somma Lombardo-Besnate. Attività di Monitoraggio Post-operam SIC IT2010011 “Paludi di Arsago”. Relazione Finale. Parco Lombardo della Valle del Ticino. Magenta.
- Eusebio Bergò P., Seglie D., Soldato G. (2014). SIC “Paludi di Arsago”: una delle più importanti aree per il Pelobate fosco (*Pelobates fuscus insubricus*) in Italia. In F. Casale, D. Sala, & A. Bellani (Eds.), *Il patrimonio faunistico del Parco del Ticino negli anni 2000* (pp. 127–137). Montefiascone (VT): Parco Lombardo della Valle del Ticino, Fondazione Lombardia per l’Ambiente.
- Eusebio Bergò P., Seglie D., Soldato G. (2016). Monitoraggio batracologico nel SIC Paludi di Arsago e indagini per l’individuazione di nuove stazioni di *Pelobates fuscus insubricus* nel territorio del Seprio (Varese). Parco Lombardo della Valle del Ticino. Magenta.
- Eusebio Bergò P., Seglie D., Soldato G. (2017). Species Per Aquam. Potenziamento di due aree sorgenti (Paludi di Arsago e Lago di Comabbio) per il consolidamento della connessione ecologica tra la valle del Ticino e le Alpi: Paludi di Arsago. Relazione delle attività svolte nel primo anno di progetto (2016). Magenta.
- Eusebio Bergò P., Seglie D. e Soldato G., 2019. Linee Guida per la Gestione e Conservazione del Pelobate fosco insubrico. Fondazione Cariplo - Fondazione Lombardia per l’Ambiente - Parco Lombardo della Valle del Ticino - Eleade. 54 pag.
- Eusebio Bergò P., Seglie D., Soldato G. (2020b). Species Per Aquam. Potenziamento di due aree sorgenti (Paludi di Arsago e Lago di Comabbio) per il consolidamento della connessione ecologica tra la valle del Ticino e le Alpi: Paludi di Arsago. Relazione sintetica finale. Magenta.
- Ficetola G. F., Siesa M. E., Padoa-Schioppa E., De Bernardi F. (2011B). Wetland features, amphibian communities and distribution of the alien crayfish, *Procambarus clarkii*. *Alytes* 29: 75–87.
- Fortina R. & Marocco R. (1994). Distribuzione del pelobate insubrico *Pelobates fuscus insubricus* Cornalia in Piemonte. *Riv.Piem.St.Nat.*, 15:117-126.
- Gherardi F., Panov V. E. (2009). *Procambarus clarkii* (Girard), red swamp crayfish/crawfish (Cambaridae, Crustacea), in: “Handbook of alien species in Europe”, Springer, Dordrecht: 316.
- Grossenbacher K. (1995). Situazione di *Pelobates fuscus insubricus* nella Pianura Padana. Circolare ciclostilata in proprio.
- Gruppo Monitoraggio Pelobates, (2009). Segnalazione n. An009: Pelobate fosco - *Pelobates fuscus*. In: Sindaco R. & Seglie D. (Eds.). Segnalazioni Faunistiche Piemontesi e Valdostane, II. *Riv. Piem. St. Nat.*, 30: 212.
- I.P.L.A. (2017a). Zona Speciale di Conservazione IT1110047 “Scarmagno-Torre Canavese (Morena destra d’Ivrea). Piano di Gestione. Regione Piemonte. Settore Pianificazione Aree Protette: 171 pp.

- I.P.L.A. (2017b). Sito di Importanza Comunitaria IT1110004 - Lago di Bertignano e stagni di Roppolo. Studio per il Piano di Gestione. Regione Piemonte. Settore Pianificazione Aree Protette: 390 pp.
- I.P.L.A. (2019). Zona Speciale di Conservazione IT1170003 - Stagni di Belangero. Piano di Gestione. Regione Piemonte. Settore Pianificazione Aree Protette: 168 pp.
- IUCN/SSC (2013). Guidelines for Reintroductions and Other Conservation Translocations. Version 1.0. Gland, Switzerland: IUCN Species Survival Commission, viii + 57 pp.
- Karaus U., Alder L. & Tockner K. (2005). Concave islands: diversity and dynamics of parafluvial ponds in a gravelbed river. *Wetlands* 25: 26–37
- Lapini L., Dall'Asta A., Bressi N., Dolce S., Pellarini P. (1999). Atlante corologico degli Anfibi e dei Rettili del Friuli-Venezia Giulia. Comune di Udine, Edizioni del Museo Friulano di Storia Naturale 43, 149 pp.
- Lapini L., Dall'Asta A., Richard J. (1993). *Pelobates fuscus insubricus* Cornalia, 1873 (Amphibia, Salientia, Pelobatidae) in north-eastern Italy. *Atti Mus. Civ. St. Nat. Trieste*, 45: 159-162.
- Li Vigni F., Mercurio V. (2007) Rediscovery of *Pelobates fuscus insubricus* in the Asti Province, northwestern Italy. *Acta Herpetologica*, 2 (1): 1-6.
- Linee guida per l'immissione di specie faunistiche* - AA. VV., 2007. Quad. Cons. Natura 27, Min Ambiente - Ist. Naz. Fauna Selvatica.
- Mazzotti S., Rizzati E. (2001). Prima segnalazione di *Pelobates fuscus insubricus* (Cornalia, 1873) nel Delta del Po ferrarese (Amphibia, Anura, Pelobatidae). *Ann. Mus. civ. St. nat. Ferrara*, 2001, 4.
- Mazzotti, S., and E. Rizzati. 2001. Prima segnalazione di *Pelobates fuscus insubricus* Cornalia, 1873 nel Delta del Po ferrarese (Amphibia, Anura, Pelobatidae). *Ann. del Mus. Civ. di Stor. Nat. Ferrara* 4:137–142.
- QUADRO DI AZIONI PRIORITARIE (PAF, Prioritized Action Framework) PER NATURA 2000 in LOMBARDIA per il quadro finanziario pluriennale 2021-2027
- QUADRO DI AZIONI PRIORITARIE (PAF) PER NATURA 2000 in REGIONE PIEMONTE per il quadro finanziario pluriennale 2021-2027
- Richard J., Tenan S. (2008). Primi dati su struttura demografica e biologia riproduttiva della popolazione di pelobate fosco, *Pelobates fuscus insubricus*, a Porto Caleri (Rosolina, RO) (Anura: Pelobatidae). *Bollettino del Museo civico di Storia Naturale di Venezia*, 58ns, 90–98.
- Rodríguez C. L., Bécares E., Fernández-Aláez M., Fernández-Aláez C. (2005). Loss of diversity and degradation of wetlands as a result of introducing exotic crayfish. *Biological Invasions* 7, 75–85.
- SHI (2011). Assessing the status of amphibian breeding sites in Italy: a national survey, *Acta Herpetologica*, 6 (1): 119-126.
- Seglie D. (2018). Studi e approfondimenti finalizzati alla redazione del Piano di Gestione della Zona di Protezione Speciale IT1180028 "Fiume Po, tratto vercellese-alessandrino". Componente: Erpetofauna. Ente di gestione delle aree protette del Po vercellese-alessandrino, Valenza (AL).
- Seglie, D, Eusebio Bergò, P, Demaria, M. (2014). Monitoraggio batracologico nel SIC Stagni di Belangero. PSR 2007-2013: Misura 323. Relazione Finale. Ente di Gestione delle Aree Protette Astigiane.
- Seglie D., Tessa G., Giacomina C. (2014). Monitoraggio batracologico presso il Parco del Ticino piemontese. PSR 2007-2013 Misura 323. DBIOS dell'Università di Torino & Ente di gestione delle aree protette Ticino e Lago Maggiore, Torino.

Seglie D., Sindaco R., Marocco R., Simonis G. (2019). Il monitoraggio del Pelobate fosco e degli altri anfibii nelle Oasi WWF di "Cascina Bellezza" e "Cascina Lai". Relazione riassuntiva del monitoraggio 2019. Associazione Cascina Bellezza, Poirino (TO).

Sindaco R., Vallinotto E., Seglie D. (2013). *Pelobates fuscus*: esperienze pluriennali di gestione attiva. In: Atti IX Congresso Nazionale della Societas Herpetologica Italica, pp. 309-313. Scillitani, G., Liuzzi, C., Lorusso, L., Mastropasqua, F., Ventrella, P., Eds., Pineta, Conversano. Seglie D., Eusebio Bergò P., Soldato G., Ghielmi S., Luraschi N., Laddaga L. (2017). Il pelobate fosco (*Pelobates fuscus insubricus*) nel Seprio (VA, CO): riconferme e nuove stazioni. *Pianura - Sci. e Stor. dell'ambiente padano* 35, 119–124.

Stanford J. A., Ward J. V., Liss W. J., Frissell C. A., Williams R. N., Lichatowich J. A., Coutant C. C. (1996). A general protocol for restoration of regulated rivers, *Regulated Rivers: Research & Management*, 12, 391–413.

Tockner K., Klaus I., Baumgartner C., Ward J. V. (2006). Amphibian Diversity and Nestedness in a Dynamic Floodplain River (Tagliamento, NE-Italy). *Hydrobiologia*, 565(1), 121–133.

WWF Piemonte (2006). Sito di Importanza Comunitaria IT1130004 Lago di Bertignano (Viverone) e stagno presso la strada per Roppolo: Piano di Gestione. Regione Piemonte: 168+65 pp.