

Informe final publicable de proyecto

Herramientas para el monitoreo y control de la invasión de rana toro

Código de proyecto ANII: FMV_3_2020_1_162548

04/12/2023

LAUFER GRUNVALD, Gabriel (Responsable Técnico - Científico)

AGUDELO RUIZ, Jhonny Andres (Investigador)

ARTEAGA GUARUMO, Johny Alejandro (Investigador)

AUBET AYRALA, Natalie R. (Investigador)

BORTEIRO, Claudio (Investigador)

CORTIZAS RAMOS, Sofía (Investigador)

DUQUE BUITRAGO, Johan Sebastian (Investigador)

GOBEL MAZZUCHELLI, Noelia Karen (Investigador)

GONZÁLEZ BERGONZONI, Iván (Investigador)

KACEVAS MORENO, Nadia (Investigador)

ZAPATA VALENCIA, Jorge Iván (Investigador)

VIDA SILVESTRE URUGUAY (Institución Proponente) \\
UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA. INSTITUTO TECNOLÓGICO REGIONAL CENTRO-SUR \\
MINISTERIO DE EDUCACIÓN Y CULTURA. MUSEO NACIONAL DE HISTORIA NATURAL Y ANTROPOLOGÍA \\
VIDA SILVESTRE URUGUAY

Resumen del proyecto

Este proyecto de investigación ha arrojado resultados significativos sobre la invasión, el monitoreo y el manejo de la rana toro en Aceguá, Cerro Largo, que son aplicables a otras regiones o contextos. Consolidamos una base de datos exhaustiva (de más de 12 años) que fue fundamental para comprender la dinámica de la invasión y sus impactos en la biodiversidad local. Desarrollamos herramientas tecnológicas como la aplicación "Monitoreo de Anfibios" y "Monitoreo Acústico de Rana Toro", involucrando a la comunidad local en la conservación. Reportamos los efectos perjudiciales de la rana toro en los anfibios nativos, con una disminución en la diversidad de especies y la abundancia. Además, mediante el uso de análisis de grafos, proveímos la propagación de la rana toro y priorizamos medidas de control en áreas críticas. Esto constituye una fuerte herramienta para planificación y manejo. A pesar de los desafíos en los experimentos de atracción de larvas y adultos, la esterilización quirúrgica de machos demostró ser una estrategia promisoriosa. Logramos obtener machos estériles, documentar el procedimiento y generamos evidencia de que siguen siendo caníbales. Esta es otra herramienta concreta para el manejo. Nuestros resultados destacan la necesidad de un monitoreo continuo, la colaboración interinstitucional y la investigación constante para abordar las invasiones biológicas. Hemos publicado un artículo científico y estamos preparando tres publicaciones adicionales. Además, presentamos nuestros hallazgos en cinco congresos científicos, promoviendo la difusión de conocimientos y la concienciación sobre esta importante problemática.

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Conservación de la Biodiversidad / Invasiones Biológicas

Palabras clave: manejo de invasión biológica / conservación de la biodiversidad / sensoramiento remoto /

Introducción

La pérdida de biodiversidad es uno de los problemas globales más críticos en la actualidad, amenazando servicios ecosistémicos valiosos y el bienestar humano. Existe abundante evidencia que indica que las tasas actuales de pérdida de especies son significativamente mayores que en tiempos previos a la presencia humana en la Tierra. Nos encontramos en medio de un proceso de drástica pérdida de especies y disminución de las poblaciones en los diferentes biomas¹. Estos procesos tienen múltiples causas, como la pérdida y degradación de hábitats, la sobreexplotación, la contaminación, el cambio climático y las invasiones biológicas (fuente: www.ipbes.net). Las especies no nativas invasoras (ENNI) son una de las causas recurrentes del delicado estado de conservación global de las especies². De hecho, varios autores consideran que las ENNI son la segunda causa más importante de pérdida de biodiversidad, después de la pérdida de hábitats, y la primera en sistemas dulceacuícolas³.

Las invasiones biológicas constituyen un proceso socio-ambiental que consta de diferentes etapas. Estas comienzan con la translocación causada por el hombre, que puede ser intencional o no, de individuos a un nuevo sitio que está fuera de su distribución histórica. En este nuevo lugar, un reducido número de individuos de algunas especies logra establecerse, dando origen a pequeñas poblaciones no nativas. Bajo ciertas condiciones, algunas de estas poblaciones pueden expandirse y alcanzar altas abundancias y áreas de distribución significativas. Por lo general, es en esta última fase cuando estas invasiones son detectadas debido a sus notables abundancias o a sus efectos evidentes en el entorno ambiental y económico^{2,4}. Comprendiendo este proceso, los esfuerzos de manejo resultan más efectivos cuando se enfocan en la prevención de las translocaciones y en la detección temprana y respuesta rápida. Una vez que una invasión se ha propagado, su erradicación se vuelve costosa y, en muchos casos, solo quedan estrategias de control o mitigación posibles⁵.

Una vez expandidas, las ENNI generan diversas interacciones con las comunidades nativas. Se han realizado investigaciones especialmente centradas en sus efectos negativos en las interacciones tróficas, la competencia y la depredación. Además, varios enfoques han evidenciado efectos adversos mediados por la alteración de hábitats, la ocupación de ambientes, la transmisión de enfermedades, la explotación de recursos y la hibridación^{6,7}. El rol trófico de las ENNI condiciona la magnitud de las interacciones y efectos sobre las comunidades invadidas. Es así que se ha propuesto que los grandes depredadores exóticos pueden desencadenar cambios profundos, incluyendo respuestas en cascada en los ecosistemas^{8–10}.

Además de los efectos ambientales, las invasiones biológicas tienen un profundo impacto en la economía y la sociedad¹¹. Por ejemplo, en 1998, Australia destinó USD 12,33 billones al control de invasiones¹². A nivel regional, en Chile se estima que las siete principales especies exóticas invasoras generan una pérdida anual de USD 87 millones, y se argumenta que,

si no se toman medidas, esta pérdida podría aumentar en dos órdenes de magnitud en 20 años¹³. Aunque en Uruguay no se han realizado evaluaciones económicas, es razonable esperar que los costos sean significativos debido a la fuerte dependencia económica del entorno natural. Por ejemplo, a nivel nacional ya han sido identificados importantes efectos negativos de las especies exóticas invasoras en la generación de energía hidroeléctrica, procesos industriales, ganadería, turismo, pastizales y forestación. En respuesta a este desafío, que es relativamente nuevo para nuestras instituciones, se han formado grupos de trabajo que incluyen a académicos, organismos de gestión y actores del sector privado. Entre éstos, el Comité Nacional de Especies Exóticas Invasoras (CEEI), coordinado por el Ministerio de Ambiente, se destaca por su enfoque multidisciplinario y su rol^{14,15}.

Dada la magnitud y persistencia del fenómeno de invasiones a nivel global, se ha optado por realizar priorizaciones regionales de especies a las cuales dirigir el esfuerzo de manejo. Un criterio simple y ampliamente utilizado es evaluar la capacidad de daño de una especie y la factibilidad de su control local. Así se priorizan aquellas especies que representan un mayor riesgo, y para las cuales existe una alta probabilidad de éxito en el control. Este es el caso de la rana toro (*Aquarana catesbeiana* = *Lithobates catesbeianus*) en Uruguay, la cual fue priorizada por el CEEI, en base a la información disponible de efectos y distribución, generados por nuestro equipo en el marco del Proyecto Rana Toro en Uruguay (PRTU)^{14,16,17}.

Tal como sucedió en otros países, la rana toro (originaria del este de Norteamérica) fue introducida en Uruguay en los años 80' con fines de acuicultura, llegando a establecerse más de 20 granjas, que posteriormente cerraron, originando diferentes focos de invasión. En el marco de nuestro proyecto hemos detectado y mapeado la presencia de la rana toro en seis localidades, de las cuales tres tienen poblaciones establecidas a la fecha: Aceguá (Cerro Largo), San Carlos (Maldonado) y Los Cerrillos (Canelones)^{16–21}. Esto implica un riesgo, ya que este anuro de gran tamaño corporal (en larvas o renacuajos y adultos), invade sistemas lénticos dulceacuícolas permanentes (estanques, tajamares), gracias a su gran plasticidad y capacidad de tolerar diferentes ambientes y condiciones. Tal como ha sido ampliamente reportado en otras regiones^{3,22,23}, hemos detectado que la rana toro modifica la estructura de las comunidades invadidas, con cambios notorios en diversidad, abundancias, distribución de tamaños corporales y estructura de las redes tróficas^{9,16,21,24}. Los anfibios y peces nativos resultan los grupos más afectados (en abundancias y diversidad). Esto resulta preocupante por potenciales efectos sobre la biodiversidad y los servicios ecosistémicos de los reservorios de agua. Particularmente en Aceguá, la rana toro se expande año a año, amenazando con establecerse en los cultivos de arroz y en la laguna de OSE para consumo humano²⁰. Si bien desconocemos qué podría suceder, las lecciones aprendidas muestran que no es deseable desajustar los sistemas dulceacuícolas de uso humano.

A partir de nuestras investigaciones, encontramos que: 1) la rana toro afecta severamente las comunidades nativas, y 2) su distribución resulta acotada y bien conocida. Este contexto muestra que su control y erradicación resultan cometidos necesarios y factibles. Así se crea un "Plan Piloto de Erradicación de EEI: *Lithobates catesbeianus* (Rana toro)" (https://www.gub.uy/ministerio-ambiente/sites/ministerio-ambiente/files/documentos/publicaciones/Plan_Piloto_Erradicacion_Rana_toro_Acegua_2018.pdf) por parte del CEEI, liderado por el Ministerio de Ambiente. Por diversos motivos (ver abajo) se tomó como punto inicial la localidad de Aceguá. Esta primera respuesta coordinada y planificada ante una invasión biológica, resulta un hito para nuestro país y la región. Luego, el Ministerio de Ambiente planificó aumentar los sitios de gestión, creando un grupo de respuesta rápida ante esta invasión prioritaria²⁵. En este marco, el presente proyecto se propuso desarrollar herramientas concretas, en forma de insumos directamente aplicables a dicha iniciativa nacional de conservación.

Como signatario del Convenio de Biodiversidad 2010-2020, Uruguay se ha comprometido a controlar las ENNI (Meta-9 Aichi). Luego de identificadas y priorizadas las ENNI, se tomó como especie prioritaria bandera a la rana toro. Si bien, de acuerdo al marco conceptual este control resultaría de relativamente fácil implementación, las primeras iniciativas en territorio (iniciadas en Aceguá por DINAMA y autoridades ambientales de Cerro Largo y la Alcaldía) denotan una clara falta de herramientas básicas de encare del problema. De hecho, Kraus (2009) revisó los casos de éxito de control de esta especie en etapas tempranas, encontrando que la metodología utilizada aparece escasamente descrita²³. Dichas falencias afectan desde el nivel de caracterización de la situación en terreno (diagnóstico de estado y predicción de avance), hasta la falta de metodologías efectivas para planificar el manejo, así como remover ejemplares de la naturaleza (trampeo y manejo poblacional).

Este proyecto se propuso como objetivo general fortalecer el proceso nacional de manejo de rana toro, basado en, y aportando al marco de conocimiento global de su invasión. Para esto, generar conocimiento científico aplicado al monitoreo del hábitat, diagnóstico de la invasión y control de *A. catesbeiana*, tomando la población invasora de Aceguá como modelo de estudio. Así se plantearon tres objetivos específicos, con el fin de abordar el diagnóstico y la generación de conocimiento para el manejo de la invasión, que se detallan a continuación:

Instaurar un sistema de monitoreo participativo sostenible a futuro.

La falta de diagnósticos claros de la distribución espacial es un desafío recurrente para los gestores de ENNI, especialmente en Sudamérica²⁶. A pesar de contar con información básica sobre la rana toro en Uruguay, era necesario establecer un monitoreo participativo que permitiera rastrear su avance y evaluar la efectividad de las medidas de manejo. Para cumplir este objetivo, desarrollamos dos aplicaciones móviles: una para estandarizar el muestreo de cuerpos de agua invadidos y otra para involucrar a los residentes de las áreas afectadas en el monitoreo participativo. Este enfoque nos permitió mejorar la base de datos y fortalecer el sistema de monitoreo.

A partir de estas series temporales que consolidamos durante este proyecto, realizamos también un análisis de efectos de la invasión sobre el ensamble nativo de anfibios. Además, montamos un seguimiento sonoro de los cuerpos de agua (mediante monitoreo automático²⁷) para evaluar la posibilidad de existencia de cambios en el paisaje sonoro asociados a esta invasión. Estos enfoques permitirán avanzar en la comprensión de los mecanismos de impacto, los patrones de requerimientos y la actividad de la rana toro en Aceguá. Además, nos permite obtener datos de horario de actividad y fenología de rana toro que puedan afinar los momentos de monitoreo.

Caracterizar el medio físico y los parámetros ecosistémicos que permitan explicar el establecimiento y dispersión de la rana toro en el área de estudio.

Como enfoque de estudio de la invasión abordamos el contexto social en que se encuentra, mediante el mapeo de actores sociales y una encuesta de percepción de la situación²⁸. También evaluamos las condiciones locales ambientales y de invasión a nivel de cada charco o tajamar para cuantificar las dificultades de manejo que presenta cada uno de los cuerpos de agua invadidos. Esta información, muchas veces ignorada, resulta básica para el plan de control existente²⁹.

En el contexto de la evaluación de invasiones biológicas en comunidades espacialmente estructuradas, como los tajamares, se reconoció el valor de la teoría de grafos para comprender y modelar la dinámica de avance de la invasión³⁰. A partir de las bases de datos elaboradas utilizamos la aproximación de grafos para describir el proceso de invasión. Esto nos permitió priorizar cuerpos de agua que requerirían control para frenar o entretener la dispersión en el paisaje local de Aceguá y la creación de una herramienta con potencial predictivo para el futuro de la invasión.

Generar herramientas que faciliten y potencien el manejo de la rana toro, especialmente en sistemas con bajas abundancias y difícil acceso, así como en el frente de invasión.

Aunque las técnicas convencionales de manejo, como la remoción con redes de arrastre, la colecta manual y el secado de charcos, resultan efectivas en sistemas con alta densidad de rana toro^{3,31}, surgen desafíos en el manejo de bajas densidades o remanentes de medidas de control convencional, especialmente sin causar alteraciones significativas en el paisaje. Dada la alta prolificidad de la rana toro^{32,33}, la persistencia de unos pocos individuos podría revertir rápidamente los avances logrados. En respuesta, exploramos dos líneas de desarrollo: la atracción selectiva hacia trampas, similar a las utilizadas para otros anfibios invasores³⁴, y la esterilización de adultos, una técnica previamente empleada en mamíferos e insectos³⁵.

Con estas aproximaciones hemos avanzado significativamente en la comprensión del problema y la generación de recursos que aportan hacia su control. Nuestros resultados toman relevancia en el contexto de la investigación internacional sobre esta problemática global^{31,36,37}. Se requiere ahora ponerlos a prueba en el marco aplicado y complementarlos con evaluaciones de resultados y nuevas investigaciones. Resulta clave generar insumos para aprovechar la oportunidad existente del control de la rana toro, no solo por su peligrosidad, sino porque este conocimiento será promotor de una estrategia nacional de manejo de la problemática de ENNI.

Metodología/diseño del estudio

Metodología para cada objetivo:

Instaurar un sistema de monitoreo participativo sostenible a futuro.

Realizamos dos muestreos durante la estación reproductiva en 2021 y 2022, en el horario de mayor actividad de la rana toro y el ensamble de anfibios nativos^{37,38}. Abarcamos más de 5 km de radio del foco inicial, cubriendo siempre un área periférica no invadida de 1 km, y comprendieron un total de 75 charcos o tajamares, en cada año³. Además, consultamos a pobladores locales sobre avistamientos o escuchas de rana toro. Así obtuvimos la distribución finamente actualizada de la invasión.

Durante estos muestreos, recopilamos datos de presencia de la rana toro y anfibios nativos, y características ambientales de cada charco. Utilizamos la observación directa y de escucha sistematizada, categorizando las vocalizaciones y complementando con registros de audio⁴¹. Caracterizamos en cada charco su profundidad, área, presencia de zona somera, número de microhábitat en borde y cobertura de macrófitas. Datos que geo-referenciamos y sistematizamos.

Desarrollamos dos aplicaciones móviles: una dirigida a investigadores y otra a la ciencia ciudadana⁴² (Survey123,ESRI).

La primera permite obtener datos geo-referenciados en el muestreo, mientras que la segunda permite la recopilación de datos de registros de audio, aprovechando el distintivo canto de la rana toro. Esta aplicación promovió la participación activa de la comunidad en el monitoreo y está disponible de forma gratuita para dispositivos Android y iOS. Promovimos el uso de la app ciudadana entre los habitantes locales (agricultores, residentes y escuelas) y en áreas cercanas a Isidoro Noblia y el área protegida SNAP Paso Centurión, anticipando la expansión de la invasión.

Con el objetivo de evaluar los efectos de la rana toro sobre los anuros nativos, realizamos un análisis exhaustivo de datos recopilados durante los últimos 12 años en Aceguá. Nos centramos en la respuesta de la riqueza y la abundancia de anfibios nativos en relación al tiempo de invasión y la abundancia de la rana toro en cada charco. Por tratarse de una serie temporal, aplicamos modelos lineales generalizados mixtos (GLMM) con el año y el tiempo de invasión como factores aleatorios. Además, incluimos variables ambientales y condiciones climáticas al momento de los muestreos como variables independientes en los modelos.

El seguimiento sonoro de los cuerpos de agua, lo realizamos colocando 12 grabadores automáticos (Audiomoth) en diferentes cuerpos de agua, seis invadidos por rana toro y seis no invadidos. Desde agosto de 2021 hasta marzo de 2023, grabamos tres minutos por hora. Periódicamente, revisamos el estado de los equipos, descargando el material grabado y cambiando las baterías. Además, instalamos una estación meteorológica en el centro de los charcos analizados, registrando temperatura, humedad de aire y suelo, pluviosidad, viento y nivel de luz solar. Estos datos ambientales fueron complementados con sensores de temperatura de agua Hobo-Pendant en siete cuerpos de agua.

Caracterizar el medio físico y los parámetros ecosistémicos que permitan explicar el establecimiento y dispersión de la rana toro en el área de estudio.

Caracterización del contexto social

Para obtener información de la percepción y afinidad al control de esta invasora, realizamos un mapeo de actores clave y entrevistas semiestructuradas a 32 pobladores de Aceguá. Este proceso implicó la organización de un taller participativo, reuniendo a diferentes referentes sociales con conocimiento previo de nuestro trabajo y un facilitador externo a nuestro equipo. Durante el taller, se fomentó la participación activa y se utilizó la metodología CLIP (Community-Led Interactive Participatory; www.sas2.net)⁴³ para representar y comprender la compleja red de actores involucrados en la problemática de la invasión de la rana toro (fenómeno socio-ambiental influenciado por decisiones y acciones humanas). Este enfoque no solo permitió una comprensión más profunda de la dinámica social relacionada con la invasión, sino que también estableció una conexión sólida con la comunidad local, identificando aquellos actores que deberían participar en la solución del problema. En noviembre de 2021 una facilitadora externa al proyecto entrevistó en forma semiestructurada a pobladores de Aceguá.

Priorización de charcos

Abordamos diferentes aspectos del medio físico y los parámetros ecosistémicos relevantes para comprender la distribución y dispersión de la rana toro. Caracterizamos detalladamente los cuerpos de agua de la zona de estudio, basándonos en datos de campo e imágenes satelitales. Además, clasificamos los cuerpos de agua invadidos en diferentes categorías según su estructura y uso, incluyendo tajamares, bañados, canteras, pozones y piletas de decantación. Para cada tipo de cuerpo de agua, registramos información detallada sobre su superficie, profundidad y la proporción de áreas someras. También evaluamos la vegetación de los cuerpos de agua y sus alrededores. Identificamos y cuantificamos macrófitas acuáticas (sumergidas, flotantes y emergentes), y caracterizamos la vegetación terrestre circundante, (desde chirca hasta arbustos y árboles). Con toda esta información, clasificamos los cuerpos de agua de acuerdo a la dificultad para el manejo.

Para evaluar la invasión de la rana toro, recopilamos datos que incluían la abundancia de ejemplares post-metamórficos durante los muestreos de 2021 y 2022, utilizando avistamientos visuales y la identificación de vocalizaciones características. Además, evaluamos la persistencia de la rana toro en el tiempo, considerando la variación anual en su detectabilidad durante la última década (base de datos PRTU). Esto nos permitió generar una herramienta interpretativa y predictiva de la invasión de la rana toro en el terreno, lo que resulta fundamental para priorizar y organizar el plan de erradicación.

Priorización a nivel de paisaje

Analizamos la dinámica de dispersión de la rana toro mediante la teoría de grafos. Consideramos que esta invasión se comporta como una población espacialmente estructurada, ocupando charcos permanentes como sus hábitats óptimos (sistemas discretos) y utilizando los entornos terrestres para dispersar. Utilizamos las capas "tajamares" y "cuerpos de agua desconocida" de la Infraestructura de Datos Espaciales de Uruguay (IDE) y mapeos manuales de la región brasileña adyacente, para establecer la red de sitios a considerar, en 4000 metros de radio desde el origen de la invasión. Esta base

de datos se complementó con información de invasión de rana toro y una medida categórica de abundancia: 1 (1 adulto registrado, sin presencia de larvas), 2 (entre 2 y 5 adultos registrados, baja abundancia de larvas) y 3 (más de 5 adultos registrados y/o alta abundancia de larvas). Esta información se incluyó de manera anual, desde 2012 hasta 2022, considerando datos previos del PTRU y datos generados en este proyecto.

A partir de esta base de datos, construimos una red bipartita dirigida, en donde cada charco invadido se conecta de manera direccional a todos los charcos no invadidos, utilizando el paquete `igraph`. El peso de cada conexión es el inverso de la distancia entre cada par de sistemas. Esta red se construyó de manera independiente para cada año y nivel de abundancia de rana toro en los charcos. Para cada una de las redes determinamos el valor de centralidad de grado de cada charco. Planteamos así un modelo binomial, considerando que la probabilidad de invasión de un charco depende de los valores de conectividad a charcos con abundancia baja, media y alta, del año previo. Analizamos su desempeño mediante curvas ROC. A partir del modelo resultante, estimamos la probabilidad de invasión de charcos no invadidos en la próxima temporada, siendo sitios a priorizar. Además, para los charcos invadidos, analizamos su centralidad como medida del riesgo de dispersión, que serían los charcos prioritarios a controlar. Estas predicciones y análisis del riesgo de dispersión lo realizamos partiendo del escenario de la temporada 2022 y de la sequía 2023 donde muchos cuerpos de agua se secaron.

Generar herramientas que faciliten y potencien el manejo de la rana toro, especialmente en sistemas con bajas abundancias y difícil acceso, así como en el frente de invasión.

Como primer atractor a trampas pasivas, evaluamos experimentalmente las preferencias de alimentación de las larvas de rana toro a diferentes cebos, en diferentes momentos (invierno, primavera temprana y primavera avanzada de 2022) y desarrollos corporales. Realizamos estos experimentos en contenedores plásticos de un metro de longitud, bajo condiciones controladas de luz y temperatura, en instalaciones del Municipio de Aceguá. Durante cada salida de campo, colectamos larvas de rana toro, y se aclimataron a las condiciones experimentales. En cada corrida experimental, sometimos a estas larvas a tres tratamientos diferentes: colas de larvas de conoespecíficos, carne de pollo y un grupo de control, como forma de probar potenciales cebos atractores. Estos tratamientos se dispusieron en ambos extremos del contenedor dentro de bolsas de tela tul. Durante las corridas experimentales, observamos en diferentes momentos la posición de las larvas en relación a los diferentes cebos, con el objetivo de identificar preferencias. Exploramos los resultados, buscando diferencias entre los tratamientos, mediante análisis de varianza (ANOVA).

Evaluamos la atracción de adultos en su entorno natural, mediante un experimento con playback de cantos nupciales de rana toro, en la temporada reproductiva de 2021. La idea del experimento fue evaluar la eficacia de las trampas (nasas plegables de red con seis entradas) con y sin un dispositivo de atracción. Este dispositivo consistió en un parlante que reproducía el canto característico de la rana toro, que habíamos recopilado durante muestreos previos. Procesamos las grabaciones mediante el software Audacity, lo que nos permitió crear cantos restringidos en tiempo y con una alternancia variable para evitar que los adultos se habituaran. Además de los cantos, incorporamos un modelo plástico de una rana toro en las trampas para simular la presencia de esta especie en el entorno. La instalación de las trampas se llevó a cabo durante el atardecer, y se controló la captura a las cuatro horas de iniciado el experimento. La cantidad de ranas toro capturadas en cada tratamiento fue comparado por ANOVA, utilizando el tratamiento y el charco como factores.

Llevamos a cabo la esterilización quirúrgica de machos adultos de la rana toro capturados en tres salidas de campo, durante el proyecto. Estos individuos fueron previamente marcados con elastómeros y sometidos a mediciones corporales detalladas. Los machos seleccionados fueron alojados en un estanque artificial, donde se aclimataron durante un período mínimo de un mes. La técnica de inducción anestésica se aplicó gradualmente, utilizando el anestésico Ketamina al 50 mg/mL, administrado mediante inyección intramuscular o intracelómica. Durante este proceso, se monitoreó la pérdida de respuesta al estímulo conocido como "toe pinch reflex" hasta que se logró la inducción anestésica satisfactoria.

La castración de los machos esterilizados implicó la extirpación de las gónadas mediante cirugía. Este procedimiento incluyó incisiones en la piel, de la zona anterior del abdomen y la pared abdominal, seguidas de la extracción y posterior sutura de los testículos. Luego, se llevó a cabo la sutura de la pared muscular abdominal mediante una técnica de sutura continua (tipo Surget), seguida de la sutura de la piel. Después de la cirugía, se administraron antibióticos y analgésicos, y los individuos se mantuvieron en condiciones individuales durante las primeras 24 horas postoperatorias, tras lo cual se reintegraron al mismo recinto.

Para evaluar si los machos esterilizados mantenían patrones de comportamiento caníbal similares a los machos intactos, realizamos pruebas experimentales. Para esto, ubicamos en mesocosmos con plantas flotantes machos estériles y machos intactos, permitiéndoles aclimatarse por varios días antes de ofrecerles presas de juveniles coespecíficos. Luego, monitoreamos y registramos el tiempo de consumo de la primera y segunda presa. Los resultados de este experimento fueron explorados mediante ANOVA para determinar si existían diferencias significativas en los tiempos de consumo entre

los grupos, lo que proporciona información crucial sobre posibles cambios en el interés de los machos esterilizados por las presas coespecíficas. Este análisis reviste gran importancia en la evaluación de la utilidad futura de esta técnica en el manejo de la población de rana toro.

Resultados, análisis y discusión

Resultados para cada objetivo:

Objetivo Específico-1

Consolidamos una base de datos exhaustiva que abarca 12 años desde el inicio de la invasión en 2007, hasta la fecha actual. Esto tiene un valor excepcional, ya que pocos estudios a nivel global cuentan con un detalle tan minucioso del avance de una invasión biológica en el tiempo. En particular, durante el monitoreo de los dos últimos años, hemos observado que la rana toro continúa su expansión de manera constante (Figura 1). La información recopilada durante estos años ha servido como insumo fundamental para llevar a cabo mapeos, seguimientos, análisis de grafos y evaluar los efectos de la presencia de la rana toro en los ensamblajes de anfibios nativos. Estos hallazgos cobran gran relevancia, ya que nos alertan sobre la importancia de gestionar y contener la propagación de esta invasora.

Para estos muestreos, desarrollamos exitosamente la aplicación "Monitoreo de Anfibios" a través de Survey123 como parte integral de nuestra estrategia de conservación. Esta herramienta, ha demostrado su eficacia al agilizar y mejorar significativamente la recopilación de datos durante nuestros muestreos. Además, hemos adaptado esta aplicación para su uso en todo Uruguay, lo que la convierte en una valiosa herramienta para futuros muestreos de anfibios en otras regiones. Su continua utilización garantiza la calidad y eficiencia en la recopilación de datos en nuestras labores de conservación. También creamos una aplicación de participación ciudadana llamada "Monitoreo Acústico de Rana Toro" y hemos capacitado a la comunidad local para su uso (Figura 2). Este año, esperamos iniciar los registros ciudadanos de cantos en las áreas cercanas a la invasión de Aceguá.

Durante el monitoreo 2023, una sequía intensa llevó al secado de numerosos cuerpos de agua en la zona, algunos no secos en 40 años según pobladores locales. En marzo de 2023, registramos en campo el estado de este "experimento natural" de manejo, medimos niveles de agua y fotografiamos los charcos, constatando que varios de ellos estaban secos.

Efectos en los anfibios nativos

Los datos de 12 años revelaron impactos sustanciales sobre los anfibios nativos debido a la invasión. Tanto la diversidad de especies (Figura 3), como la abundancia de individuos (Figura 4) de anfibios autóctonos, se vieron afectadas negativamente con el tiempo y la abundancia de la rana toro. Además, observamos que la heterogeneidad en la periferia de los charcos y otros factores ambientales desempeñaron un papel significativo en estos efectos. La temperatura del aire en el momento del muestreo también resultó ser un factor relevante. Al analizar los impactos de la rana toro a nivel de especie, encontramos diferencias significativas, siendo algunos anfibios acuáticos los más afectados (Figura 5).

Registros de Audiomoth

Durante el proyecto, se construyó y mantuvo una base de datos exhaustiva durante dos años, en 12 charcos (con algunas pérdidas de equipos durante el segundo año), tanto en sitios invadidos como no invadidos. Además, se recopiló varios datos meteorológicos, como temperatura, humedad, precipitación, humedad del suelo, viento y temperatura del agua. Nos enfocamos en la organización y curación de esta base de registros sonoros, que ahora se encuentra disponible para futuros estudios sobre patrones de actividad de la rana toro y sus efectos en la complejidad del espacio sonoro de los cuerpos de agua invadidos. Este proceso inicial de análisis se está llevando a cabo, y aunque implica desafíos considerables debido al gran volumen de registros sonoros, tiene como objetivo extraer información crucial para la gestión, incluyendo la comprensión de cuándo y cómo ocurre la vocalización de la rana toro. Además, se busca obtener datos relevantes para la restauración y mitigación de efectos negativos (Tabla 1).

Objetivo Específico-2

1-Contexto social

El mapeo de actores sociales reveló que las instituciones con alto poder ejecutivo (alcaldías, intendencias y ministerios) mostraron bajo interés en el control de la rana toro, mientras que las educativas y civiles mostraron mayor interés en abordar la problemática. Se planteó una preocupación sobre la falta de continuidad en las medidas realizadas exclusivamente en el cuartel de Aceguá. Se destacó la necesidad de involucrar al Ministerio de Ambiente y el Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca en la búsqueda e implementación de soluciones. El desafío principal es involucrar a grupos interesados y motivar a los de bajo interés, incluyendo instituciones locales de Uruguay y Brasil (Figura 6).

Las entrevistas locales revelaron que el 41% de los pobladores locales tenía un profundo conocimiento sobre la rana toro, y el 28% tenía conocimientos básicos. El 41% consideró que la rana toro tiene efectos negativos, el 6% positivos, y el 19% neutros. Dos personas mencionaron molestias por el ruido del canto de la rana. Veintitrés entrevistados estarían

dispuestos a colaborar en medidas de control, sugiriendo estrategias como pesca con red, caza, pesca con anzuelo y trampeo. Se destacó la importancia de involucrar a la comunidad local y proporcionar información adecuada (Figura 7).

2-Priorización por aspectos locales

A partir de los datos obtenidos en los monitoreos y campañas de campo del proyecto, se definieron dos variables de resumen que nos permitieron categorizar cada cuerpo invadido. La variable dificultad de manejo se construyó a partir de la suma de la categoría de área (1- menor a 1000 m²; 2- entre 1000 y 3000 m²; 3- mayor a 3000 m²), la profundidad máxima (1- menor a 1 m; 2- de 1 a 3 m; 3- de 3 a 6 m; 4- más de 6 m), densidad relativa de vegetación acuática (estimada en: 1- baja; 2- media; 3- alta), densidad relativa de vegetación periférica (estimada en: 1- baja; 2- media; 3- alta). La variable del nivel de invasión se construyó a partir de la suma de la abundancia de rana toro (1- un individuo observado y/o escuchado vocalizando; 2- entre 2 y 5 individuos observados y/o escuchados en categoría 2 o 3; 3- más de 5 individuos observados y/o escuchados en categoría 4 en coro³⁸), persistencia de los registros en el tiempo (1- presencia fluctuante; 2- presencia de rana toro persistente), y evidencia de reproducción (0- sin evidencia; 1- registros de presencia de larvas). Al analizar los charcos ocupados por la rana toro, notamos que la mayoría muestra altos niveles de invasión y niveles intermedios de dificultad de manejo (Figura 8). Es destacable que los cuerpos de agua con altos niveles de invasión suelen ser más difíciles de gestionar. Sería beneficioso considerar estos datos junto con la evaluación de la conectividad en una red^{30,39}. Esta información resulta crucial para la planificación de medidas de control y gestión, adaptándolas a las condiciones específicas de cada cuerpo de agua^{40,41}. Esto proporciona una ventaja significativa en la optimización de recursos y el aumento de la probabilidad de éxito.

3-Priorización por aspectos de paisaje:

A partir de las redes generadas para cada año y nivel de abundancia en los charcos invadidos (Figura 9), realizamos un análisis utilizando un modelo binomial para evaluar si la probabilidad de invasión está influenciada por las métricas de centralidad y las abundancias de rana toro. El modelo resultante, retuvo la conectividad hacia charcos con los tres niveles de abundancia, con una tasa global de aciertos de 84% (según curvas ROC). Los valores máximos de conectividad a charcos con baja abundancia, ofrecen una baja probabilidad de invasión (10% aproximadamente). Sin embargo, a mayores valores de conectividad a charcos de abundancias altas, la probabilidad de invasión llega al 25% y a altos valores de conectividad de abundancias medias al 60% (Figura 10). Según este análisis, los charcos de abundancias medias serían los mayores condicionantes de la dispersión de rana toro en Aceguá. A partir de este modelo, de buen desempeño, mapeamos los charcos invadidos de acuerdo a su conectividad y riesgo de dispersión, entendiendo que los que presenten mayores valores serían los prioritarios a erradicar para detener la invasión (Figura 11). Además, realizamos una predicción de probabilidad de invasión para la próxima temporada (fin de 2023), siendo charcos a poner especial alerta (Figura 11). Este mismo análisis lo repetimos considerando el escenario de la fuerte sequía que tuvimos en 2023, donde la mitad de los charcos invadidos se secaron (Figuras 12).

Objetivo Específico-3

1-Atracción a trampas

Los experimentos de atracción de larvas a los diferentes tipos de cebo (colas de larvas de rana toro, pollo y control) no mostraron ninguna tendencia clara, en todas las fechas y en los diferentes momentos de desarrollo. Como ejemplo podemos ver que a los 15 minutos de introducidos los cebos, las larvas no presentaron diferencias en su distribución en los dispositivos experimentales (Figura 13). Esto nos muestra que el agregado de este tipo de cebos a las trampas no mejoraría la captura pasiva. Las tallas de las larvas fueron: en julio $5,8 \pm 4,3$ - $8,6$ cm (media \pm rango), en setiembre $6,2 \pm 3,9$ - $10,1$ cm, y en noviembre $13,8 \pm 12$ - $16,2$ cm.

Los experimentos de atracción de adultos tampoco arrojaron resultados alentadores, ya que no ocurrió un incremento de capturas ante el uso del dispositivo sonoro. Repetimos el experimento en siete charcos invadidos, con 14 pruebas (dispositivo y control), sin lograr aumentar la atracción. Se lograron capturar dos individuos, un adulto (RedDev=5,4; P=0,2) y un juvenil (RedDev=8,4; P=0,08). Por tanto tampoco logramos con esto algo aplicable a maximizar la captura pasiva.

2-Esterilización quirúrgica

La inyección intramuscular de Ketamina (dosis total <200 mg/kg) fue la vía de administración que logró una mejor inducción anestésica y una recuperación postoperatoria. El tiempo medio para alcanzar el plano anestésico fue de $92,2 \pm 35,8$ min. La coadministración intramuscular de Ketamina con tramadol resultó en el logro más efectivo de un mejor plano anestésico y la ausencia de reflejos.

Se logró esterilizar exitosamente nueve machos de rana toro. El procedimiento de esterilización tuvo una duración media de $19,9 \pm 3,7$ min. Aquellos ejemplares con mayor peso corporal y por tanto un mayor desarrollo de los racimos de cuerpos grasos resultaron de mayor dificultad para la remoción de los testículos. Todos los ejemplares experimentaron una rápida recuperación postoperatoria, sin presentar complicaciones ni patologías asociadas. Presentaron un buen estado corporal y continuaron alimentándose semanalmente sin dificultad. El proceso de cicatrización transcurrió de forma satisfactoria, logrando el correcto sellado de la piel.

Experimentalmente observamos que el 78% de los individuos esterilizados, y el 67% de los no esterilizados, presentaron comportamiento caníbal. Los tiempos de consumo y cantidad de individuos coespecíficos consumidos, no presentaron diferencias entre los individuos estériles y los normales; ni en tiempo de consumo del primer ($F=1,6$; $P=0,2$) ni del segundo ($F=3,6$; $P=0,08$) coespecífico ofrecido (Figura 14). Tampoco observamos diferencias en el total de consumo a las 72 horas de comenzado el experimento ($ResDev=67,0$; $P=0,8$). Estos resultados evidencian la persistencia de la capacidad de los machos castrados de consumir coespecíficos de la misma forma que los machos intactos, resultando en una técnica promisoriosa para incorporar a los planes de control de esta invasora (Figura 15). Si bien aún es necesaria una mayor comprensión del comportamiento de estos machos esterilizados, la técnica cuenta con un gran potencial ya que implica un bajo costo económico, no genera un impacto en el ambiente, persiste en el tiempo y puede ser utilizada de forma complementaria a otras técnicas de control.

NOTA: En el contexto de adaptarnos a las condiciones particulares del último año, no pudimos dejar de aprovechar la extrema sequía que generó un experimento natural de desecación de charcos, una de las medidas más eficaces según la literatura para controlar a la rana toro^{3,39}. Incorporamos un nuevo muestreo exhaustivo de los 75 cuerpos de agua para evaluar si aún contenían agua y, en caso afirmativo, medir su nivel. Además, recolectamos muestras para análisis de isótopos estables. Este enfoque no programado se sistematizó con el propósito de ampliar nuestro estudio en los próximos meses y observar cómo responden estos charcos a la desecación, en consonancia con las predicciones generadas en nuestros análisis de grafos. Esta inesperada oportunidad nos brinda valiosos datos para comprender la dinámica de la rana toro y las posibilidades de controlarla.

Conclusiones y recomendaciones

Las conclusiones de este proyecto ponen de manifiesto una serie de hallazgos interconectados que arrojan luz sobre la problemática de la invasión de la rana toro en Acegú y sus alrededores. En primer lugar, es innegable que esta especie no nativa e invasora está ejerciendo fuertes efectos sobre los anfibios nativos, lo que se traduce en un notorio deterioro del sistema en un período relativamente corto, con impactos visibles en el ensamble de anfibios. Este fenómeno, aunque actualmente circunscrito a ciertas áreas, plantea una seria amenaza a medida que la rana toro expande su distribución geográfica, reduciendo aún más los hábitats acuáticos no invadidos y elevando la presión sobre las especies autóctonas. En este contexto, destacamos la importancia del monitoreo a largo plazo como una herramienta esencial para comprender y gestionar eficazmente la invasión de la rana toro, así como las de otras especies y fenómenos que afectan a la biodiversidad nativa y los servicios ecosistémicos. La recopilación sistemática y estandarizada de datos, junto con la participación activa de la comunidad local, se erigen como pilares fundamentales para el mantenimiento de este proceso de vigilancia a lo largo del tiempo. Las aplicaciones móviles y las tecnologías emergentes se revelan como aliados valiosos al simplificar la toma de datos y fomentar la participación ciudadana en el monitoreo.

A pesar de los esfuerzos de diversos actores, persiste la necesidad de involucrar a las autoridades locales y nacionales en mayor medida. La colaboración interinstitucional es una pieza clave en la gestión integral de las invasiones biológicas, dado que estas problemáticas trascienden las fronteras de una entidad o comunidad específica. En el área de investigación, este proyecto fue un caso exitoso de este tipo de colaboraciones, necesitando ahora de una contraparte equivalente en el área de gestión. La información generada puede ser un buen punto de partida para promover la ejecución de medidas de manejo en territorio. La herramienta de análisis de grafos, por su parte, ha demostrado ser una herramienta poderosa y versátil para evaluar y predecir la propagación de la rana toro, lo que resalta la importancia de incorporar metodologías avanzadas en la gestión de invasiones biológicas. La aplicamos a la base de datos de invasión de rana toro en San Carlos, Maldonado²¹ generando recomendaciones de manejo y lo mejoramos y optimizamos con la base de datos generada en Acegú.

A pesar de los desafíos encontrados en las pruebas de atracción, la búsqueda de estímulos efectivos para mejorar la captura de larvas y adultos debe continuar, ya que esta estrategia posee un potencial significativo para el control de la población invasora. La esterilización quirúrgica de adultos, por otro lado, ofrece una perspectiva prometedora como complemento en la estrategia de manejo.

En última instancia, estas conclusiones subrayan la necesidad constante de avanzar en la generación de conocimiento, la formación de recursos humanos y la colaboración interinstitucional para abordar el complejo problema de las invasiones

biológicas. Si bien este proyecto ha logrado avances notables, es crucial mantener un compromiso continuo y una perspectiva global en la lucha contra las especies no nativas invasoras. Aprender de las experiencias pasadas y enfocarse en la prevención son acciones esenciales para evitar problemas similares en el futuro y salvaguardar la biodiversidad de la región. En resumen, esta investigación nos insta a unir esfuerzos y seguir avanzando en la protección de nuestros ecosistemas frente a las amenazas de las invasiones biológicas.

PRESENTACIONES Y PUBLICACIONES

Publicaciones

Laufer, G., Gobel, N., Kacevas, N., & Lado, I. (2023). American bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) distribution, impact on native amphibians and management priorities in San Carlos, Uruguay. *Knowledge & Management of Aquatic Ecosystems*, (424), 20.

Presentaciones en congresos

Gobel, N., Laufer, G., Cortizas, S., Kacevas, N., González-Bergonzoni, I., Soutullo, A. & Arim, M. 2021. Dispersión de la rana toro, *Lithobates catesbeianus*, y prioridades para su manejo en Aceguá (Cerro Largo). III Encuentro Internacional de Ecología y Conservación. Virtual, Uruguay

Laufer, G., Gobel, N., Alcántara, I., Kacevas, N. & Cortizas, S. 2021. Invasiones biológicas y pérdida de hábitat: efectos en las comunidades de anfibios. III Encuentro Internacional de Ecología y Conservación. Virtual, Uruguay

Duque, J.S., Etchissure, A., Gobel, N., Laufer, G., Cortizas, S. & Kacevas, N. 2023. Graph theory as model to understand American bullfrog invasion in Uruguay. *WCAMA - XIV Workshop de Computação Aplicada à Gestão do Meio Ambiente e Recursos Naturais*. Joao Pessoa, Brasil

Kacevas, N., Borteiro, C., Gobel, N., Cortizas, S. & Laufer G. 2023. Rana toro o rana buey?: explorando la esterilización quirúrgica como herramienta de control de la invasión de rana toro. IV Reunión de Biología del Comportamiento del Cono Sur. Buenos Aires, Argentina

Laufer, G., Gobel, N., Alcántara, I., Kacevas, N. & Cortizas, S. 2023. Efectos de las invasiones biológicas y la degradación del hábitat en los anfibios. XXIII Congreso Argentino de Herpetología. Buenos Aires, Argentina

Publicaciones en Preparación

Laufer et al. Resultados aplicados del proyecto. Informe Técnico.

Laufer et al. American bullfrog invasion effects on native amphibians.

Gobel et al. Graph theory as a model to understand American bullfrog invasion and dispersion.

Kacevas et al. Surgical sterilization for American bullfrog invasion management.

Referencias bibliográficas

1. Clavero, M. & Garcia-Berthou, E. Invasive species are a leading cause of animal extinctions. *TRENDS Ecol. Evol.* 20, 110–110 (2005).
2. Lockwood, J., Hoopes, M. & Marchetti, M. *Invasion Ecology*. (Wiley-Blackwell, 2006).
3. Adams, M. & Pearl, C. Problems and opportunities managing invasive Bullfrogs: is there any hope? in *Biological invaders in inland waters: Profiles, distribution, and threats* (ed. Gherardi, F.) vol. 2 679–693 (Springer Netherlands, 2007).
4. Crooks, J. A. Lag times and exotic species: The ecology and management of biological invasions in slow-motion. *Ecoscience* 12, 316–329 (2005).
5. Cuthbert, R. N. et al. Biological invasion costs reveal insufficient proactive management worldwide. *Sci. Total Environ.* 819, 153404 (2022).
6. Davis, M. A. *Invasion Biology*. (Oxford University Press, USA, 2009).
7. Mack, R. N. et al. Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecol. Appl.* 10, 689–710 (2000).
8. Ehrenfeld, J. G. Ecosystem consequences of biological invasions. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 41, 59–80 (2010).
9. Gobel, N., Laufer, G., González-Bergonzoni, I., Soutullo, Á. & Arim, M. Invariant and vulnerable food web components after bullfrog invasion. *Biol. Invasions* 1–16 (2022).
10. Nõomaa, K. et al. Novel fish predator causes sustained changes in its prey populations. *Front. Mar. Sci.* 9, 849878 (2022).
11. Diagne, C. et al. High and rising economic costs of biological invasions worldwide. *Nature* 592, 571–576 (2021).
12. Pimentel, D. *Biological invasions: economic and environmental costs of alien plant, animal, and microbe species*. (CRC Press, 2011).
13. Cerda, C. et al. Especies exóticas invasoras en Chile como un problema económico: valoración preliminar de impactos. *Jard. Subantárticas Altoandinas En El Parq. Etnobotánico Omora* Manuela Méndez-Herranz Ricardo Rozzi 23 (2017).
14. Aber, A., Ferrari, G., Porcile, J. F., Rodríguez, E. & Zerbino, S. Identificación de prioridades para la gestión nacional de las especies exóticas invasoras. (UNESCO, 2012).
15. MVOTMA. *Estrategia Nacional para la Conservación y Uso Sostenible de la Diversidad Biológica del Uruguay 2016 - 2020*. (2016).
16. Laufer, G., Canavero, A., Núñez, D. & Maneyro, R. Bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) invasion in Uruguay. *Biol. Invasions* 10, 1183–1189 (2008).
17. Laufer, G. et al. Current status of American bullfrog, *Lithobates catesbeianus*, invasion in Uruguay and exploration of chytrid infection. *Biol. Invasions* 20, 285–291 (2018).
18. Laufer, G. & Gobel, N. Habitat degradation and biological invasions as a cause of amphibian richness loss: a case report in Aceguá, Cerro Largo, Uruguay. *Phyllomedusa J. Herpetol.* 16, 289–293 (2017).
19. Laufer, G., Gobel, N., Kacevas, N. & Lado, I. Una nueva población feral de rana toro (*Lithobates catesbeianus*) en Uruguay, encontrada con participación ciudadana. *Rev. Latinoam. Herpetol.* 1, 47–50 (2018).
20. Laufer, G., Kacevas, N. & Gobel, N. La rana toro (*Lithobates catesbeianus*): estado de invasión, efectos y posibilidades de manejo en Uruguay. in 175–189 (2021).
21. Laufer, G., Gobel, N., Kacevas, N. & Lado, I. American bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) distribution, impact on native amphibians and management priorities in San Carlos, Uruguay. *Knowl. Manag. Aquat. Ecosyst.* 20 (2023).
22. Li, Y., Ke, Z., Wang, Y. & Blackburn, T. M. Frog community responses to recent American bullfrog invasions. *Curr. Zool.* 57, 83–92 (2011).
23. Kraus, F. *Alien reptiles and amphibians: a scientific compendium and analysis*. vol. 4 (Springer Verlag, 2009).
24. Gobel, N., Laufer, G. & Cortizas, S. Changes in aquatic communities recently invaded by a top predator: evidence of American bullfrogs in Aceguá, Uruguay. *Aquat. Sci.* 81, 8 (2019).
25. Iturburu, M. & Mello, A. L. Comité de Especies Exóticas Invasoras de Uruguay: del diagnóstico a la acción, prioridades y desafíos de gestión. in *Especies exóticas invasoras de Uruguay: distribución, impactos socioambientales y estrategias de gestión* 41–57 (RETEMA-UdelaR, CEEI-Ministerio de Ambiente, 2021).
26. Speziale, K. L., Lambertucci, S. A., Carrete, M. & Tella, J. L. Dealing with non-native species: what makes the difference in South America? *Biol. Invasions* 14, 1609–1621 (2012).
27. Hill, A. P., Prince, P., Snaddon, J. L., Doncaster, C. P. & Rogers, A. AudioMoth: A low-cost acoustic device for monitoring biodiversity and the environment. *HardwareX* 6, e00073 (2019).
28. Kapitzka, K., Zimmermann, H., Martín-López, B. & von Wehrden, H. Research on the social perception of invasive species: A systematic literature review. *NeoBiota* 43, 47–68 (2019).

29. Invasive Species Management: A Handbook of Principles and Techniques. (Oxford University Press, USA, 2009).
30. Drake, J. C., Griffis-Kyle, K. L. & McIntyre, N. E. Graph theory as an invasive species management tool: case study in the Sonoran Desert. *Landsc. Ecol.* 32, 1739–1752 (2017).
31. Groffen, J., Kong, S., Jang, Y. & Borzee, A. The invasive American bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) in the Republic of Korea: history and recommendations for population control. *Manag. Biol. Invasions* 10, 517 (2019).
32. Stumpel, A. P. Successful reproduction of introduced bullfrogs *Rana catesbeiana* in northwestern Europe: a potential threat to indigenous amphibians. *Biol. Conserv.* 60, 61–62 (1992).
33. Ruibal, M. & Laufer, G. Bullfrog *Lithobates catesbeianus* (Amphibia: Ranidae) tadpole diet: description and analysis for three invasive populations in Uruguay. *Amphib.-Reptil.* 33, 355–363 (2012).
34. Crossland, M. R., Haramura, T., Salim, A. A., Capon, R. J. & Shine, R. Exploiting intraspecific competitive mechanisms to control invasive cane toads (*Rhinella marina*). *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 279, 3436–3442 (2012).
35. Courchamp, F., Chapuis, J.-L. & Pascal, M. Mammal invaders on islands: impact, control and control impact. *Biol. Rev.* 78, 347–383 (2003).
36. Descamps, S. & De Vocht, A. State-of-the-art approach on the management of invasive faunistic aquatic alien species: The American bullfrog in Belgium. *Environ. Chall.* 11, 100690 (2023).
37. Schwindt, E. & Bortolus, A. Aquatic invasion biology research in South America: Geographic patterns, advances and perspectives. *Aquat. Ecosyst. Health Manag.* 20, 322–333 (2017).
38. Heyer, R., Donnelly, M. A., Foster, M. & McDiarmid, R. Measuring and monitoring biological diversity: standard methods for amphibians. (Smithsonian Institution, 2014).
39. Govindarajulu, P., Altwegg, R. & Anholt, B. R. Matrix model investigation of invasive species control: bullfrogs on Vancouver Island. *Ecol. Appl.* 15, 2161–2170 (2005).

Licenciamiento

Reconocimiento 4.0 Internacional. (CC BY)