



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA
E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE**

PPG Ecologia & Conservação

Universidade Estadual de Santa Cruz

DANILO SILVA RUAS

**PERSPECTIVA DO IMPACTO GERADO PELO AUMENTO DA TEMPERATURA
SOBRE ASSEMBLÉIA DE ANUROS DO CORREDOR CENTRAL DA MATA
ATLÂNTICA**

**ILHÉUS – BA
2016**

DANILO SILVA RUAS

**PERSPECTIVA DO IMPACTO GERADO PELO AUMENTO DA TEMPERATURA
SOBRE ASSEMBLÉIA DE ANUROS DO CORREDOR CENTRAL DA MATA
ATLÂNTICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade da Universidade Estadual de Santa Cruz, para a obtenção do Título de Doutor em Ecologia e Conservação da Biodiversidade.

Área de Concentração: Ecologia

Orientador: Dr. Mirco Solé

**ILHÉUS – BA
2016**

- R894 Ruas, Danilo Silva.
Perspectiva do impacto gerado pelo aumento da temperatura sobre a assembleia de anuros do corredor central da mata atlântica / Danilo Silva Ruas. – Ilhéus : UESC, 2016.
239f. : il.
Orientador : Mirco Solé.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Santa Cruz. Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade.
Inclui referências.
1. Anuro – Mata atlântica – Bahia, Sul. 2. Mudanças climáticas – Impacto ambiental. 3. Aquecimento global. 4. Biodiversidade – Mata atlântica. I. Solé, Mirco. II. Título.
- CDD – 597.8

DANILO SILVA RUAS

**PERSPECTIVA DO IMPACTO GERADO PELO AUMENTO DA TEMPERATURA
SOBRE ASSEMBLÉIA DE ANUROS DO CORREDOR CENTRAL DA MATA
ATLÂNTICA**

Ilhéus, Bahia, 09 de dezembro de 2016

Prof^a. Dr^a. Maria Lúcia Del-Grande
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
(Examinadora)

Prof. Dr. Márcio Borba da Silva
Universidade Federal da Bahia
(Examinador)

Prof. Dr^a. Ariane Lima Xavier
Instituto Federal de Ciência e Tecnologia Baiano
(Examinadora)

Prof. Dr Marco Jacinto Katzenberger Baptista Novo
Universidade Federal Rural do Semi-Árido
(Examinador)

Prof. Dr Mirco Solé
Universidade Estadual de Santa Cruz
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Considerando este trabalho como resultado de uma caminhada que não começou com a jornada do doutorado, agradecer pode não ser tarefa fácil, nem justa. Para não correr o risco da injustiça, agradeço de antemão a todos que de alguma forma passaram pela minha vida e contribuíram para a construção de quem sou hoje, e particularmente, a algumas pessoas pela contribuição direta na construção deste trabalho.

Agradeço à Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade da Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus-Bahia, pela oportunidade da realização do curso de doutorado e todo o apoio e ajuda prestada ao longo do curso.

A Mirco Solé, pela oportunidade de tê-lo como orientador de Mestrado e Doutorado. Tenho muito orgulho de citá-lo como um dos responsáveis pela minha formação profissional. Agradeço pela confiança, por todas as oportunidades oferecidas, pela preocupação e disposição em solucionar todos os problemas da melhor forma possível, pela amizade, conselhos e paciência. “Mircão” você é um exemplo de simplicidade, compreensão e competência.

À Reserva Ecológica Michelin, por oferecer o apoio financeiro e logístico durante a realização da pesquisa. Em especial, para Kevin Flesher, pela oportunidade de trabalhar na reserva e, principalmente, pela confiança depositada, meus sinceros agradecimentos. Agradeço também, André Santos, Tia Sônia e Ester que tornaram nossos dias mais alegres em quanto realizávamos os trabalhos de campo.

Aos meus amigos Caio Vinícius, Iuri Dias, Maiara Alves, Indira Castro, e Euvaldo Marciano Jr, pelas conversas, ajudas de campo, esclarecimentos de dúvidas e correções, que foram essenciais para concretização deste trabalho.

À Andrés Egea Serrano pelos conhecimentos partilhados.

À minha mãe Adailza e ao meu pai Sidnaldo (*in memoriam*) que sem dúvidas foram responsáveis pela pessoa que sou hoje, obrigado por acreditarem em mim, me ensinarem a persistir na vida e a enfrentar todas as batalhas de cabeça erguida. Mãe Sua fé, confiança e apoio me ajudaram a enfrentar todos os desafios colocados no nosso caminho. Te amo mãe!

À minha filha Cecília, por me encher de coragem e força com seus lindos sorrisos!

Em especial, ao meu amor, Tâmara Rocha, companheira nas horas boas e ruins, que me tranquiliza dizendo: “calma, vai dá tudo certo”, pessoa com quem passei, passo e sei que passarei por muitos e muitos momentos de felicidade como este, agradeço pelo incentivo, companheirismo, paciência e amor dedicados ao longo desta jornada. Te amo minha vida!

A todos que direta ou indiretamente me auxiliaram neste trabalho, meu muito obrigado.

PERSPECTIVA DO IMPACTO GERADO PELO AUMENTO DA TEMPERATURA
SOBRE ASSEMBLÉIA DE ANUROS DO CORREDOR CENTRAL DA MATA
ATLÂNTICA

RESUMO

As mudanças climáticas, destruição e fragmentação do habitat representam atualmente os fatores de maior impacto sobre a biodiversidade. Dentre os vertebrados, os anfíbios são considerados o grupo mais sensível às perturbações ambientais, uma vez que suas funções fisiológicas básicas são fortemente influenciadas pela temperatura do ambiente e características como permeabilidade da pele e ciclos de vida complexos os tornam mais suscetíveis às alterações ambientais. Neste contexto, o presente estudo objetivou: (1) descrever a tolerância ao aquecimento (TA) de nove espécies de anuros com desenvolvimento direto com ocorrência na Mata Atlântica do sul da Bahia, no cenário atual e futuro; (2) avaliar o potencial de dispersão dos anuros no Corredor Central da Mata Atlântica, utilizando uma abordagem baseada na conectividade ecológica entre os fragmentos e modelos de distribuição potencial da área avaliada. Para análise da TA foi determinada a Temperatura Crítica máxima (CT_{max}) das espécies pelo método dinâmico de Hutchison e o perfil térmico do ambiente (temperatura do ar e dos possíveis abrigos). A análise de conectividade foi verificada com base no mapa de distribuição de remanescente da Mata Atlântica disponibilizado pelo SOS Mata Atlântica e as distâncias entre os fragmentos calculadas no software Conefor 2.6. As espécies avaliadas não estão vulneráveis as temperaturas experimentadas atualmente, pois estratégias comportamentais (e.g. busca por refúgios e período de atividade) permitem que estas suportem os dias mais quentes sem estarem expostas a temperaturas próximas a sua CT_{max} . Atualmente, o Corredor Central da Mata Atlântica encontra-se muito fragmentado, com poucos remanescentes florestais apresentando bons índices de conectividade. Diante da previsão do aumento da temperatura global para este século e projeção de retração da floresta

na área do Corredor Central da Mata Atlântica em decorrência das mudanças climáticas, a condição de vulnerabilidade dos anuros torna-se iminente. A exposição das espécies à temperaturas muito próximas de suas CT_{max} por períodos mais longos poderá causar estresse fisiológico que comprometerá funções biológicas importantes ou até mesmo levá-los a morte. A falta de conectividade entre os fragmentos limitará o fluxo genético entre as populações o que consequentemente causará um efeito negativo na adaptação das espécies as novas condições ambientais, bem como inviabilizará possíveis fluxos de espécies em busca de refúgios térmicos em áreas de altitude. Como medidas de mitigação do efeito das mudanças climáticas e fragmentação, aconselhamos a implementação de ações que visem restabelecer a conectividade entre os fragmentos com maior probabilidade de se manterem em uma perspectiva de mudanças climáticas, bem como entre os remanescentes de florestas de baixadas e altitude com intuito de manter o fluxo genético entre as populações e garantir o acesso das espécies de florestas de baixadas às florestas de altitude.

Palavras-chave: Mudanças climáticas, CT_{max} , Fragmentação, Conectividade, Refugio bioclimático

ABSTRACT

Climate change, habitat destruction and fragmentation currently represent the major impacting factors on biodiversity. Among vertebrates, amphibians are considered the most sensible group to environmental disturbances, once that their basic physiological functions are strongly influenced by environmental temperature and characteristics as skin permeability and complex life cycles, which make them more susceptible to environmental changes. In this context, the present study aimed to: (1) describe warming tolerance (WT) of nine amphibian species with direct development occurring in the Atlantic Forest of southern Bahia, in the present and future scenario; (2) evaluate the dispersal potential of the anurans of the Atlantic Forest Central Corridor using an approach based on ecological connectivity between the fragments and models of potential distribution of the evaluated area. For WT analysis the Maximum Critical Temperature (CT_{max}) of the species was determined using the Hutchison dynamic method and the thermal profile of the environment (temperature of the air and inside possible shelters). The connectivity analysis was verified based on a map showing the distribution of Atlantic Forest remnants made available by SOS Mata Atlântica and the distance between the fragments was calculated using the software Conefor 2.6. The evaluated species are not vulnerable to the experienced temperatures because behavioral strategies (e. g. search for shelter and activity period) allow them to face the hottest days without being exposed to temperatures nearing their CT_{max} . Currently the Central Atlantic Forest Corridor is very fragmented, with only few forest remnants showing good connectivity indices. Given the forecast of rising global temperatures for this century and projections of forest retractions in the area of the Central Atlantic Forest Corridor due to climate change, the condition of vulnerability of anurans becomes imminent. Exposure of the species to temperatures very close to their CT_{max} for longer periods may cause physiological stress that could compromise

important biological functions or even lead to death. The lack of connectivity between the fragments will limit gen flow between populations resulting in negative effects in the adaptation of the species to novel environmental conditions, as well as prevent possible species flows in search of thermal refuges in areas of altitude. As mitigation measures for the effect of climate change and fragmentation, we advise the implementation of actions aimed at restoring connectivity between the fragments with better chances of remaining under a perspective of climate changes, as well as between lowland and highland remnants with the aim of maintaining the gen flow between the populations and guarantee the access of lowland forests species to highland forests.

Key words: Climate change, CT_{max} , Fragmentation, Connectivity, Bioclimatic refuges.

SUMÁRIO

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| RESUMO | VII |
| ABSTRACT | X |
| INTRODUÇÃO GERAL | 1 |
| REFERÊNCIAS | 6 |
| CAPÍTULO I. Vulnerabilidade de anfíbios anuros neotropicais com desenvolvimento direto ao aquecimento global | 11 |
| Resumo | 12 |
| Introdução | 13 |
| Material e Método | 16 |
| <i>Espécies alvo</i> | 16 |
| <i>Coleta e acondicionamento dos indivíduos</i> | 17 |
| <i>Determinação da tolerância térmica máxima (CT_{max}) das espécies-alvo</i> | 18 |
| <i>Determinação do perfil térmico da área amostrada</i> | 20 |
| <i>Estimativas da vulnerabilidade das espécies</i> | 21 |
| <i>Análise estatística</i> | 22 |
| Resultados | 22 |
| Discussão | 30 |
| Referências | 33 |
| CAPÍTULO II: Ecological connectivity assessment for amphibians under climate change | 40 |
| Abstract | 41 |
| Introduction | 41 |
| Material and Methods | 43 |
| <i>Study area</i> | 43 |
| <i>Protected Areas</i> | 44 |
| <i>Climate model and species turnover</i> | 45 |
| <i>Forest connectivity assessment</i> | 46 |
| Results | 49 |
| Discussion | 53 |
| References | 57 |
| Appendix A. Supplementary materials | 70 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 72 |
| APÊNDICE I: Manuscritos aceitos e publicados a partir de dados coletados ao longo do doutorado | 74 |

INTRODUÇÃO GERAL

As mudanças climáticas estão presentes no planeta Terra desde o seu princípio. Algumas das maiores alterações climáticas na história geológica da Terra foram desencadeadas pela sucessão de eventos de resfriamento e aquecimento da atmosfera (Muller *et al.*, 1997; Zachos *et al.*, 2001). As variações nas características climáticas do planeta, em conjunto com outros fatores, foram responsáveis por extinções em massa e contribuíram para modelar a distribuição atual das espécies e biomas.

Em certos momentos da história, a Terra sofreu um aquecimento semelhante ao observado atualmente. Durante o terceiro período interglaciário (entre 130.000 e 114.000) a temperatura média chegou ser 3 a 5°C mais alta do que a observada atualmente (Kaspar *et al.*, 2005). No entanto, é notável uma diferença entre a variabilidade natural do clima e a causada por forças externas (influência humana) (IPCC, 2014). Durante o século passado, a temperatura média do planeta subiu 0,6°C, entretanto, para este século é esperado um aumento cinco vezes maior que o observado no século passado (IPCC, 2014). Isto significa que muitos ecossistemas serão sujeitos a uma taxa de aquecimento muito superior àquela a que estiveram sujeitos nos últimos milhares de anos.

Smith *et al.* (2009) sugerem que aumentos menores de temperatura seriam suficientes para desencadear impactos ambientais severos. Assim, algumas espécies começarão a sofrer os efeitos do aquecimento antes de cumprirem-se na totalidade as previsões de aumento de temperatura feitas pelo IPCC (*Intergovernmental Panel on Climate Change* - Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas) (Katzenberger *et al.*, 2012).

Alguns estudos já têm associado o declínio e/ou extinção de espécies de peixes (e.g. Trape, 2009), anfíbios (e.g. McMenamin *et al.*, 2008; D'amen & Bombi, 2009), répteis (e.g. Sinervo *et al.*, 2010), aves (e.g. Gilchrist & Mallory, 2005) e mamíferos (e.g. Beever *et*

al., 2011), à uma maior frequência de eventos climáticos extremos e mudanças nos padrões de chuvas em diversas regiões do mundo. Embora declínios populacionais estejam sendo associados ao aumento da temperatura, o registro dessas acima da tolerância térmica máxima das espécies ainda não é considerada a causa direta desses declínios devido ao comportamento dos animais de evitar exposição a altas temperaturas (McCarty, 2001; Cahill *et al.*, 2013). O uso de refúgios térmicos pode reduzir o risco de mortalidade por exposição direta à altas temperaturas, uma vez que, nesses microambientes, a temperatura tende ser inferior ao observado no ambiente de forrageamento, tornando possível a manutenção de processos biológicos dependentes da temperatura, mesmo após um evento de elevação da temperatura ambiental (Kearney *et al.*, 2009).

Os declínios populacionais podem estar associados aos efeitos indiretos do aquecimento, como disponibilidade de alimento, limitação de oxigênio, redução no tempo de forrageamento, restrição de funções metabólicas ou assincronia fenológica entre espécies (Pörtner & Knust, 2007; Kearney *et al.*, 2009; Sinervo *et al.*, 2010; Singer & Parmesan, 2010), bem como, pelos efeitos não-letais como aumento na taxa de desenvolvimento (Trnka *et al.*, 2007; Juszczak *et al.*, 2013; Kjærsgaard *et al.*, 2013), deslocamento para áreas termicamente mais favoráveis (Perry *et al.*, 2005), antecipação do período reprodutivo (Crick & Sparks, 1999; Dunn & Winkler, 1999) e alteração do canto de anúncio (Narins & Meenderink, 2014). Além disso, as mudanças climáticas podem atuar de forma conjunta com outros fatores de ameaça (e.g. poluição e fragmentação), visto que estressores ambientais não agem isolados em ambientes naturais, mas em combinação com muitos outros fatores (Blaustein & Kiesecker, 2002; Qian *et al.*, 2008; Cahill *et al.*, 2013).

A maior parte da biodiversidade terrestre é representada por animais ectotérmicos. Esses são muito suscetíveis ao aquecimento global porque a temperatura ambiente influencia diretamente suas funções fisiológicas básicas (crescimento, desenvolvimento e reprodução)

(Hochachka & Somero, 2002). Assim, para esses organismos, a maioria dos processos fisiológicos decorre em um intervalo de temperaturas do corpo que define uma curva de desempenho térmico (Huey & Stevenson, 1979). Esta curva de sensibilidade térmica aumenta gradualmente a partir de uma temperatura crítica mínima (CT_{min}), a uma temperatura ótima (T_{opt}), e depois cai rapidamente a uma temperatura crítica máxima (CT_{max}). Os limites térmicos críticos definem a faixa de tolerância térmica de um organismo. Deste modo, em temperatura ideal o organismo obtém seu melhor desempenho, ao passo que, em temperaturas abaixo ou acima da faixa de tolerância há redução ou até mesmo perda das funções fisiológicas vitais (Hillman *et al.*, 2009).

Considerando a grande diversidade de espécies ectotérmicas nas florestas tropicais, os conhecimentos acumulados ainda são insuficientes para prever quais serão as respostas destas frente às previsões de aumento da temperatura global. Estudos fisiológicos sugerem que as espécies tropicais apresentam capacidade limitada para se aclimatar, tolerâncias térmicas estreitas e já estão vivendo perto de seus limites térmicos superiores (Deutsch *et al.*, 2008; Tewksbury *et al.*, 2008; Huey *et al.*, 2009; Dillon *et al.*, 2010; Duarte *et al.*, 2012; Laurance *et al.*, 2011). Assim, possíveis mudanças climáticas, que ocasionem aumento de temperatura, levariam estes organismos ao estresse térmico ou os obrigariam a migrarem para latitudes mais altas ou para áreas de altitude (e.g. florestas montanas) em busca de refúgios bioclimáticos. Todavia, a redução de temperatura em um deslocamento latitudinal na zona tropical é muito menor do que a variação de temperatura altitudinal (Colwell *et al.*, 2008). Conseqüentemente, para espécies tropicais afetadas pelo aquecimento a busca por refúgios térmicos em áreas montanhosas é mais provável do que mudanças latitudinais (Bush, 2002; Bush & Hooghiemstra, 2005), principalmente, para organismos que possuem baixa capacidade de dispersão, como os anfíbios (Smith & Green, 2005).

Dentre os ectotérmicos os anfíbios são considerados o grupo de maior vulnerabilidade. De acordo com a União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN, 2008), aproximadamente 32% das espécies de anfíbios estão ameaçadas em todo o mundo. Atualmente, o Brasil abriga a maior diversidade mundial de anfíbios, com 1080 espécies (Segalla *et al.*, 2016), sendo que das 973 espécies inseridas na última avaliação nacional de espécies ameaçadas, 41 estão em categorias de ameaça (em extinção, vulneráveis e criticamente em perigo), 22 quase ameaçadas e 167 classificadas como dados insuficientes (MMA, 2014). Além disso, para os anfíbios, características como permeabilidade da pele e ciclos de vida complexos com metamorfose os obrigam a viverem parte da vida em ambientes aquáticos e outra parte em ambientes terrestres tornando-os mais suscetíveis às mudanças ambientais (Wells, 2007).

Declínios populacionais e extinções de anfíbios têm sido bem documentados (Blaustein, 1994; Stuart *et al.*, 2004; Pounds *et al.*, 2006). As ameaças às suas populações são também aquelas que têm afetado a biodiversidade global, sendo a mudança climática uma das principais preocupações (Collins & Crump, 2009; Alford, 2011; Hof *et al.*, 2011). O aumento da temperatura não tem sido considerado como causa direta de eventos letais em anfíbios (Carey & Alexander, 2003), embora estudos recentes tenham sugerido que isso pode mudar em um futuro próximo, caso as previsões de aquecimento estejam corretas (e.g. Duarte *et al.*, 2012; Gutiérrez-Pesquera *et al.*, 2016).

Hutchison (1961) e Brattstrom (1968) apresentaram, na década de 60, importantes contribuições sobre a fisiologia térmica em anfíbios. Nas últimas três décadas a produção de conhecimento a cerca deste tema aumentou expressivamente, tendo como propósito entender as respostas fisiológicas destes animais frente às previsões de aquecimento global (Hutchison & Dupré, 1992; Rome *et al.*, 1992; Ultsch *et al.*, 1999; Wells, 2007; Hillman *et al.*, 2009; Navas *et al.*, 2008; Katzenberger, 2009; Duarte *et al.*, 2012; Sanabria *et al.*, 2012; Sanabria *et*

al., 2013; Simon *et al.*, 2015; Gutiérrez-Pesquera *et al.*, 2016). No Brasil, as pesquisas sobre este tema tem se desenvolvido nos últimos anos (Tejedo *et al.*, 2012; Simon *et al.*, 2015; Gutiérrez-Pesquera *et al.*, 2016), entretanto há uma parcela considerável de espécies a serem avaliadas.

Os estudos sobre fisiologia térmica em anfíbios centraram-se principalmente na fase larvária, pois estas representam um bom modelo para estes estudos, uma vez que, por serem aquáticas suas temperaturas corporais são iguais às do meio envolvente, não desidratam com o calor como nas fases terrestres e as características do ambiente aquático limitam as suas possibilidades de termorregulação (Huey, 1974; Huey & Stevenson, 1979; Spotila *et al.*, 1992; Wu & Kam, 2005; Katzenberger *et al.*, 2012). Contudo, utilizando apenas a fase larvária deixamos de avaliar a vulnerabilidade das espécies na fase adulta, bem como uma parcela considerável das espécies de anuros que apresentam desenvolvimento direto. Atualmente, existe pouca informação disponível para a fase adulta (Hutchison, 1961; Brattstrom, 1968; Sanabria *et al.*, 2012; Sanabria *et al.*, 2013) e nenhuma informação a cerca da fisiologia térmica para espécies de anfíbios com desenvolvimento direto.

Neste sentido, o presente trabalho organizado em dois capítulos, busca expandir o conhecimento dos possíveis impactos ambientais decorrentes das mudanças climáticas sobre anuros na região Sul da Bahia. No **Capítulo 1**, apresentamos uma avaliação da tolerância ao aquecimento em anuros que apresentam desenvolvimento direto. No **Capítulo 2**, buscamos quantificar o grau de conectividade entre fragmentos florestais no cenário presente e futuro para avaliar a viabilidade de migração das populações presentes em áreas de baixada para áreas de altitude em busca de possíveis refúgios bioclimáticos.

REFERÊNCIAS

- Alford RA (2011) Bleak future for amphibians. *Nature*, **480**, 461–462.
- Beever EA, Ray C, Wilkening JL, Brussard PF, Mote PW (2011) Contemporary climate change alters the pace and drivers of extinction. *Global Change Biology*, **17**, 2054–2070.
- Blaustein AR (1994) Chicken little or nero's fiddle? A perspective on declining amphibian populations. *Herpetologica*, **50**, 85–97.
- Blaustein AR, Kiesecker JM (2002) Complexity in conservation: Lessons from the global decline of amphibian populations. *Ecology Letters*, **5**, 597–608.
- Brattstrom BH (1968). Thermal acclimation in anuran amphibians as a function of latitude and altitude. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **24**, 93–111.
- Bush MB (2002) Distributional change and conservation on the Andean flank, a paleoecological perspective. *Global Ecology Biogeography*, **11**, 463–473.
- Bush MB, Hooghiemstra H (2005) Tropical biotic responses to climate change. In: *Climate Change and Biodiversity* (eds Lovejoy TE, Hannah L) PP. 125–137. Yale Univ. Press. New Haven.
- Cahill JA, Green RE, Fulton TL *et al.* (2013) Genomic evidence for island population conversion resolves conflicting theories of polar bear evolution (MW Nachman, Ed.). *PLoS Genetics*, **9**.
- Carey C, Alexander MA (2003) Climate change and amphibian declines: is there a link? *Diversity and Distributions*, **9**, 111–121.
- Collins JP, Crump ML (2009) Extinction in our times: global amphibian decline. Oxford University Press, New York, NY, USA. 304pp.
- Colwell RK, Brehm G, Cardelús CL, Gilman AC, Longino JT (2008) Global Warming, Elevational Range Shifts, and Lowland Biotic Attrition in the Wet Tropics. *Science*, **322**, 258–261.
- Crick HQP, Sparks TH (1999) Climate change related to egg-laying trends. *Nature*, **399**, 423.
- D'amen M, Bombi P (2009) Global warming and biodiversity: Evidence of climate-linked amphibian declines in Italy. *Biological Conservation*, **142**, 3060–3067.
- Deutsch CA, Tewksbury JJ, Huey RB *et al.* (2008) Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **105**, 6668–6672.

- Dillon ME, Wang G, Huey RB (2010) Global metabolic impacts of recent climate warming, *Nature*, **467**, 704–706
- Duarte H, Tejedo M, Katzenberger M *et al.* (2012) Can amphibians take the heat? Vulnerability to climate warming in subtropical and temperate larval amphibian communities. *Global Change Biology*, **18**, 412–421.
- Dunn P, Winkler D (1999) Climate change has affected the breeding date of tree swallows throughout north america. *Proceedings: Biological Sciences*, **266**, 2487–2490.
- Gilchrist G, Malloty M (2005) Can Local Ecological Knowledge Contribute to Wildlife Management? Case Studies of Migratory Birds. *Ecology and Society*, **10**, 20.
- Gutiérrez-Pesquera LM, Tejedo M, Olalla-Tárraga MA, Duarte H, Nicieza A, Solé (2016) Testing the climate variability hypothesis in thermal tolerance limits of tropical and temperate tadpoles. *Journal of Biogeography*, 1-13.
- Hillman SS. *et al.* (2009) *Ecological and environmental physiology of amphibians*. Oxford University Press.
- Hochachka PW, Somero GN (2002) *Biochemical adaptation: Mechanism and process in physiological evolution*. New York: Oxford University Press.
- Hof C, Araújo MB, Jetz W, Rahbek C (2011) Additive threats from pathogens, climate and land-use change for global amphibian diversity. *Nature*, **480**, 516–519.
- Huey RB (1974) Behavioral thermoregulation in lizards: importance of associated cost. *Science*, **184**, 1001–1003.
- Huey RB, Deutsch CA, Tewksbury JJ *et al.* (2009) Why tropical forest lizards are vulnerable to climate warming. *Proceedings Biological Sciences The Royal Society*, **276**, 1939–1948.
- Huey RB, Stevenson RD (1979) Integrating thermal physiology and ecology of ectotherms - discussion of approaches. *American Zoologist*, **19**, 357–366.
- Hutchison VH (1961) Critical thermal maxima in salamanders. *Physiological Zoology*, **34**, 92–125.
- Hutchison VH, Dupré RK (1992) Thermoregulation. In: *Environmental Physiology of the Amphibians* (eds Ferder ME, Burggren WM) PP. 206–249. Chicago: The University of Chicago Press.
- IPCC (2007) *Climate Change. The Physical Science Basis. Contribution of Working Group 1 to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge, UK and New York, USA: Cambridge University Press, 2007.
- IPCC, 2014. *Climate Change 2014 Synthesis Report Summary Chapter for Policymakers* 31.

- IUCN, Conservation International, and Nature Serve. (2008) An Analysis of Amphibians on the 2008 IUCN Red List. Disponível em <www.iucnredlist.org/amphibians>. Acessado em 28/06/2016.
- Juszczak R, Kuchar L, Leśny J, Olejnik J (2013) Climate change impact on development rates of the codling moth (*Cydia pomonella* L.) in the Wielkopolska region, Poland. *International Journal of Biometeorology*, **57**, 31–44.
- Kaspar F, Kühl N, Cubasch U, Litt TA (2005) Model-data comparison of European temperatures in the Eemian interglacial. *Geophysical Research Letters*, **32**, 11703.
- Katzenberger M, Tejado M, Duarte H, Marangoni F, Beltrán JF (2012) Tolerância e sensibilidade térmica em anfíbios *Revista da biologia*, **8**, 25-32
- Katzenberger MJ (2009) Thermal Tolerance and Sensitivity of Amphibian Larvae from Palearctic and Neotropical Communities. Master Thesis. Universidade de Lisboa, Portugal.
- Kearney M, Shine R, Porter WP (2009) The potential for behavioral thermoregulation to buffer “cold-blooded” animals against climate warming. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**, 3835–3840.
- Kjærsgaard A, Pertoldi C, Loeschcke V, Blanckenhorn WU (2013) The effect of fluctuating temperatures during development on fitness-related traits of *Scatophagaster coraria* (Diptera: Scathophagidae). *Environmental entomology*, **42**, 1069–78.
- Laurance WF, Carolina Useche D, Shoo LP *et al.* (2011) Global warming, elevational ranges and the vulnerability of tropical biota. *Biological Conservation*, **144**, 548–557.
- Mccarty JP (2001) Ecological Consequences of Recent Climate Change. *Conservation Biology*, **15**, 320–331.
- Mcmenamín SK, Hadly EA, Wright CK (2008) Climatic change and wetland desiccation cause amphibian decline in Yellowstone National Park. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **105**, 16988–16993.
- Ministério do Meio Ambiente (MMA) (2014) Lista de espécies ameaçadas. – Available at <http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/docs-estado-de-conservacao/last> accessed: 01 November, 2016
- Muller RA, Macdonald GJ (1997) Glacial Cycles and Astronomical Forcing. *Science*, **277**, 215-218.
- Narins PM, Meenderink SWF (2014) Climate change and frog calls: long-term correlations along a tropical altitudinal gradient. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, **281**, 1–6.

- Navas CA, Gomes FR, Carvalho JE (2008) Thermal relationships and exercise physiology in anuran amphibians: integration and evolutionary implications. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **151**, 344–362.
- Perry AL, Low PJ, Ellis JR, Reynolds JD (2005) Climate change and distribution shifts in marine fishes. *Science*, **308**, 1912–1915.
- Pörtner H, Knust R (2007) Climate change affects marine fishes through the oxygen limitation of thermal tolerance. *Science*, **315**, 95–97.
- Pounds JA, Bustamante MR, Coloma L *et al.* (2006) Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming. *Nature*, **439**, 161–7.
- Qian Z, He Q, Lin HM *et al.* (2008) High temperatures enhanced acute mortality effects of ambient particle pollution in the “Oven” city of Wuhan, China. *Environmental Health Perspectives*, **116**, 1172–1178.
- Rome LC, Stevens ED, John-Alder HB (1992) The influence of temperature and thermal acclimation on physiological function. In: *Environmental Physiology of the Amphibians* (eds Ferder ME, Burggren WM). Chicago: University Chicago Press.
- Sanabria E, Quiroga LB, Martino AL. (2012) Seasonal changes in the thermal tolerances of the toad *Rhinella arenarum* (Bufonidae) in the Monte Desert of Argentina. *Journal of Thermal Biology* 37(6):409–412
- Sanabria E, Quiroga L, Martino A (2013) Seasonal changes in the thermal tolerances of *Odontophrynus occidentalis* (Berg, 1896) (Anura: Cycloramphidae). *Belgian Journal of Zoology*, **143**, 23–29.
- Segalla MV, Caramaschi U, Cruz CAG *et al.* (2016) Brazilian Amphibians: List of Species. *Herpetologia Brasileira*, **5**, 34–46.
- Simon MN, Ribeiro PL, Navas CA (2015) Upper thermal tolerance plasticity in tropical amphibian species from contrasting habitats: Implications for warming impact prediction. *Journal of Thermal Biology*, **48**, 36–44.
- Sinervo B, Méndez-de-la-Cruz F, Miles DB *et al.* (2010) Erosion of lizard diversity by climate change and altered thermal niches. *Science*, **338**, 894–899.
- Singer MC, Parmesan C (2010) Phenological asynchrony between herbivorous insects and their hosts: signal of climate change or pre-existing adaptive strategy? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **365**, 3161–3176.
- Smith JB, Schneider SM, Oppenheimer M *et al.* (2009). Assessing dangerous climate change through an update of the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) ‘reasons’ for concern. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**, 4133–4137.

- Smith MA, Green DM (2005) Dispersal and the metapopulation paradigm in amphibian ecology and conservation: are all amphibian populations metapopulations? *Ecography*, **28**, 110–128.
- Spotila JR, O'Connor MP, Bakken GS (1992). Biophysics of heat and mass transfer. In: *Environmental Physiology of the Amphibians*. (eds Feder ME, Burggren WW). PP. 59–80. Chicago: University Chicago Press.
- Stuart SN, Chanson JS, Cox NA, Young BE, Rodrigues ASL, Fischman DL, Waller RW (2004) Status and Trends of Amphibian Declines and Extinctions Worldwide. *Science*, **306**, 1783–1786.
- Tejedo M, Duarte H, Gutiérrez-Pesquera LM *et al.* (2012) El estudio de las tolerancias térmicas para el examen de hipótesis biogeográficas y de la vulnerabilidad de los organismos ante el calentamiento global. *ejemplos en anfibios*. *Boletín Asociación Herpetológica Española*, **32**, 2–27.
- Tewksbury JJ, Huey RB, Deutsch CA (2008) Putting the heat on tropical animals. *Science*, **320**, 1296–1297.
- Trape S (2009) Impact of climate change on the relict tropical fish fauna of central Sahara: Threat for the survival of Adrar mountains fishes, Mauritania. *PLoS one*, **4**, 1–10.
- Trnka M, Muška F, Semerádová D *et al.* (2007) European Corn Borer life stage model: Regional estimates of pest development and spatial distribution under present and future climate. *Ecological Modelling*, **207**, 61–84.
- Ultsch GR, Bradford DF, Freda J (1999). Physiology: coping with the environment. In: *Tadpoles: The Biology of Anuran Larvae* (eds McDiarmid RW, Altig R) PP. 189–214. Chicago: University of Chicago Press.
- Wells KD (2007) *The ecology and behavior of amphibians*. University of Chicago Press.
- Wu CS, Kam YC (2005) Thermal tolerance and thermoregulation by Taiwanese Rhacophorid tadpoles (*Buergeria japonica*) living in geothermal hot springs and streams. *Herpetologica*, **61**, 35–46.
- Zachos J, Pagani M, Sloan L, Thomas E, Billups K (2011) Trends, rhythms, and aberrations in global climate 65 Ma to present. *Science*, **292**, 686–693.

CAPÍTULO I

Vulnerabilidade de anfíbios anuros neotropicais com desenvolvimento direto ao aquecimento global

(A ser submetido à revista Global Change Biology)

Vulnerabilidade de anfíbios anuros neotropicais com desenvolvimento direto ao aquecimento global

Resumo: As mudanças climáticas estão entre as principais ameaças a biodiversidade, sobretudo em áreas tropicais. Os anfíbios são considerados um dos grupos de animais mais sensíveis às mudanças climáticas, uma vez que suas funções fisiológicas básicas são fortemente influenciadas pela temperatura do ambiente e características como permeabilidade da pele e ciclos de vida complexos os tornam mais suscetíveis às alterações ambientais. Neste estudo avaliamos a tolerância ao aquecimento (TA) de nove espécies de anuros com desenvolvimento direto, no cenário atual e futuro. Para isto, determinamos a Temperatura Crítica Máxima (CT_{Max}) das espécies e verificamos o perfil térmico do ambiente (temperatura do ar e dos possíveis abrigos) em uma área neotropical. As CT_{max} das espécies foram significativamente diferentes, não apresentando sinal filogenético, indicando que esta resposta fisiológica pode ser influenciada pela interação de características específicas da espécie e seu nicho realizado. Entre as espécies avaliadas a mais vulnerável foi *Haddadus binotatus* e a que apresentou maior tolerância foi *Pristimantis* sp. 2. Embora a temperatura máxima do ar tenha superado a CT_{max} de algumas espécies, as mesmas não se encontram em risco iminente, pois as temperaturas mais altas ocorreram durante o dia, período em que as espécies encontram-se nos abrigos, onde a temperatura é em média 4°C abaixo da temperatura do ar. Assim as espécies conseguem suportar os dias mais quentes sem estresse térmico. Considerando a projeção de aquecimento futuro para o polígono de distribuição de cada espécie observa-se que em algumas regiões ao longo de suas distribuições, mesmo abrigadas, algumas espécies experimentarão temperaturas muito próximas aos seus limites térmicos. Por desconhecer os efeitos da exposição prolongada a temperaturas próximas de suas CT_{max} sobre as funções

biológicas dessas espécies, acreditamos que estas poderão estar em risco caso a projeção de aquecimento se confirme. Recomendamos que sejam realizados estudos para avaliar as alterações fisiológicas que ocorrem nos organismos que estejam expostos por longos períodos a temperaturas próximas as suas CT_{max} , bem como o efeito do aquecimento no desenvolvimento dos ovos.

Palavras-chave: Tolerância térmica, CT_{max} , variação inter-específica, aquecimento global.

Introdução

A temperatura é um fator determinante para a sobrevivência dos organismos, pois influencia diretamente as reações bioquímicas responsáveis pela manutenção de processos fisiológicos vitais (Hochachka & Somero, 2002), podendo atuar nos padrões de abundância e distribuição das espécies, bem como em suas diversas interações ecológicas (Dunson & Travis, 1991; Titon *et al.*, 2010; Prates *et al.*, 2013). Neste sentido, sob condições térmicas ideais, os organismos desempenham com maior eficiência suas funções biológicas (Angilletta *et al.*, 2002; Schulte *et al.*, 2011).

De acordo com o IPCC (*Intergovernmental Panel on Climate Change*), os impactos mais relatados das mudanças climáticas são atribuídos ao aumento da temperatura global e/ou mudanças nos padrões de precipitação. Estas mudanças climáticas tem causado alterações significativas nos padrões de distribuição e fenologia de diversas espécies, bem como na estrutura e funcionamento dos ecossistemas (Root *et al.*, 2003; Parmesan, 2006). Estas têm sido apontadas como uma das principais ameaças para a biodiversidade (Sala *et al.*, 2000; Pereira *et al.*, 2010) e indicadas como causa de extinção, por tornar as condições do habitat

inadequadas para as espécies, ou por agir em sinergia com outras ameaças (Brook *et al.*, 2008; Loyola *et al.*, 2012).

Dada a influência direta da temperatura na sobrevivência dos ectotérmicos, estudos têm demonstrado cada vez mais mudanças nos padrões de distribuição e vulnerabilidade de certas espécies relacionadas com o aumento da temperatura global (e.g. Thomas *et al.*, 2004; Stuart *et al.*, 2004; Pounds *et al.*, 2006; Sodhi *et al.*, 2008; Lawler *et al.*, 2009; Blaustein *et al.*, 2010; Duarte *et al.*, 2012; Loyola *et al.*, 2013; Pimm *et al.*, 2014; Nori *et al.*, 2015). Neste sentido, a avaliação da tolerância térmica das espécies é essencial para estimar sua vulnerabilidade ao aquecimento (Tejedo *et al.*, 2012).

A tolerância às mudanças de temperatura, caracterizada pela diferença entre a fisiologia da espécie e características térmicas do ambiente, foi estudada especialmente em animais ectotérmicos (Cowles & Bogert, 1944; Brett, 1956). Este grupo de espécies representa atualmente a maior parte da biodiversidade global e suas funções fisiológicas estão diretamente atreladas à temperatura do ambiente, tornando-os mais sensíveis às mudanças climáticas (Huey & Stevenson, 1979; Cossins & Bowler, 1987; Angilletta *et al.*, 2002; Huey *et al.*, 2009).

Um dos parâmetros fisiológicos mais confiáveis para estimar os limites máximos de tolerância térmica é a temperatura crítica máxima (CT_{max}) (Cowles & Bogert, 1944). O CT_{max} é uma medida na qual a atividade locomotora é comprometida e o organismo perde a capacidade de escapar de condições que rapidamente poderiam levá-lo a morte (White, 1983). A identificação da CT_{max} permite uma previsão de como essas populações seriam afetadas com o aquecimento global e se elas já vivem próximas de seus limites fisiológicos térmicos, através da diferença entre a CT_{max} e a temperatura máxima (T_{max}) do seu ambiente definida como tolerância ao aquecimento (TA) (Deutsch *et al.*, 2008). Esta métrica representa a estimativa da vulnerabilidade das espécies ao aumento da temperatura global, ou seja, quantos

graus o meio ambiente poderá aquecer até que a espécie entre em colapso (Somero, 2002; Deutsch *et al.*, 2008).

Atualmente os anfíbios são considerados o grupo de vertebrados mais ameaçado do mundo (Hoffmann *et al.*, 2010), e declínios populacionais e extinções de espécies vêm sendo associadas às mudanças térmicas do ambiente (Pounds *et al.*, 2006; D'amen & Bombi, 2009). Embora não haja evidências de que o aumento da temperatura seja responsável por episódios letais em anfíbios (Carey & Alexander, 2003), efeitos subletais como alteração na taxa de desenvolvimento, na distribuição e fenologia reprodutiva das espécies também estão sendo descritos como consequência das alterações climáticas (e.g. Herreid & Kinney, 1967; Beebee, 1995; Blaustein *et al.*, 2001; Rödder & Weinsheimer, 2009; Fouquet *et al.*, 2010). Além disso, estudos recentes mostram que muitas espécies de anfíbios estão vivendo em temperaturas próximas de suas CT_{max} , tornando-as vulneráveis diante das previsões de aquecimento futuro (Duarte *et al.*, 2012; Gutiérrez-Pesquera *et al.*, 2016).

A maior parte dos estudos que visam avaliar a tolerância térmica em anfíbios utiliza o estágio larval (e.g. Tejedo *et al.*, 2012; Duarte *et al.*, 2012; Simon *et al.*, 2015), uma vez que são considerados bons modelos, pois, devido ao fato da água ser um melhor condutor térmico do que o ar, sua temperatura corporal equivale ao ambiente em que vivem, e não sofrem desidratação quando expostos ao aquecimento (Burggren & Warburton, 2007; Spotila *et al.*, 1992). Além disso, a água representa um ambiente termicamente mais homogêneo do que os ambientes terrestres, o que diminui a disponibilidade de microambientes para os girinos utilizarem como refúgios térmicos. Por outro lado, estudos com anfíbios adultos ainda são escassos (e.g. Brattstrom, 1968; Brattstrom, 1970; Snyders & Weathers, 1975; Sanabria *et al.*, 2012; Sanabria *et al.*, 2013), sendo desconhecido até o momento na literatura estudos que avaliam a tolerância térmica de espécies que não apresentam estágio larval.

Em ambientes de mata, por exemplo, espécies com desenvolvimento direto tendem a apresentar certo domínio sobre espécies com desenvolvimento larval, e apesar de apresentarem uma parcela menor em relação a riqueza de espécies, apresentam maior representatividade em relação a densidade (Almeida-Gomes *et al.*, 2008; Siqueira *et al.*, 2009; Siqueira *et al.*, 2011; Rocha *et al.*, 2013). Além disso, as espécies de desenvolvimento direto neotropicais compreendem cerca de 33% das espécies de anfíbios neotropicais e quase 16% das espécies de anuros nomeadas em todo o mundo (Frost, 2014). Sendo assim, estudos que visam avaliar a tolerância térmica de anfíbios na fase adulta contribuirão para traçar o panorama de vulnerabilidade deste grupo, em especial para as espécies de desenvolvimento direto, dentre as quais metade é considerada ameaçada de extinção (IUCN, 2015).

Diante disso, os objetivos deste estudo foram: 1) descrever a tolerância térmica ao aquecimento de diferentes espécies de anfíbios anuros com desenvolvimento direto com ocorrência na Mata Atlântica do sul da Bahia; 2) avaliar a existência de diferenças interespecíficas na tolerância das espécies e 3) verificar a vulnerabilidade atual e futura das espécies com base nas tolerâncias ao aquecimento.

Material e Método

Espécies alvo

Para este estudo foram selecionadas nove espécies endêmicas da Mata Atlântica que apresentam desenvolvimento direto (modo reprodutivo 23) (Pombal & Haddad, 2005), devido ao fato dessas estarem expostas apenas a um tipo de ambiente (terrestre) ao longo de sua vida e apresentarem diferenças na amplitude da sua distribuição geográfica, bem como na

utilização de distintos microambientes (Tabela 1). Entre as espécies selecionadas, quatro delas (*Pristimantis* sp. 1; *P.* sp 2; *Adelophryne* sp. 1 e *A.* sp.2) representam novas espécies para a ciência e estão em fase de descrição. Todas as espécies avaliadas possuem hábitos noturnos.

Tabela 1. Lista das nove espécies-alvo endêmicas da Mata Atlântica, com informações sobre distribuição geográfica, tipo de habitat, microambiente utilizado e tamanho corporal.

| Espécies | Distribuição | Habitat | Microambiente | Tamanho* | Fonte† |
|---------------------------------------|---------------------|--------------------------------------|------------------------------|-----------------|---------------|
| <i>Haddadus binotatus</i> | Ampla distribuição | Ambientes florestados | Serapilheira | Grande | 1 |
| <i>Pristimantis paulodutraei</i> | Bahia e Sergipe | Ambientes florestados e antropizados | Vegetação herbáceo-arbustiva | Médio | 1 |
| <i>P. vinhai</i> | Sul da Bahia | Ambientes florestados | Vegetação herbáceo-arbustiva | Médio | 1 |
| <i>P. sp. 1</i> | Sul da Bahia | Ambientes florestados | Vegetação herbáceo-arbustiva | Médio | 2 |
| <i>P. sp. 2</i> | Sul da Bahia | Ambientes florestados | Bromélias | Médio | 2 |
| <i>“Eleutherodactylus” bilineatus</i> | Sul da Bahia | Ambientes florestados | Serapilheira | Médio | 1 |
| <i>Adelophryne mucronatus</i> | Sul da Bahia | Ambientes florestados | Serapilheira | Pequeno | 1 |
| <i>A. sp. 1</i> | Igrapiúna, Bahia | Ambientes florestados | Serapilheira | Pequeno | 2 |
| <i>A. sp. 2</i> | Sul da Bahia | Ambientes florestados | Serapilheira | Pequeno | 2 |

* Comprimento rostro-cloacal: pequeno = 0-1.5 cm; médio = 1.51-3.0 cm e grande >3.1 cm; † Fonte: 1= Haddad *et al.* 2013; 2 = este estudo

Coleta e acondicionamento dos indivíduos

Os espécimes foram coletados entre os meses de janeiro e dezembro de 2015. O esforço de amostragem foi concentrado no município de Igrapiúna, na Reserva Ecológica Michelin (13°48'S, 39°10'O) e na Fazenda Juliana (S13° 50' 24.2"S; 39° 16' 52.3' O), sul da Bahia, Brasil. Foram realizadas sete campanhas de campo com duração de 5-7 dias de coleta,

sendo duas para Fazenda Juliana e cinco para a Reserva Ecológica Michelin. Além disso, todos os exemplares analisados de *Pristimantis* sp. 2 foram obtidos em uma saída de campo para a Serra da Pedra Lascada (14° 46' 26" S; 39° 32' 08.6" O), no município de Barro Preto, Bahia. Essa espécie também foi encontrada em Igrapiúna, contudo em número insuficiente para as análises e por ser a única espécie analisada que utiliza bromélias, a conservamos em nossas análises.

Os espécimes foram procurados ativamente durante a noite, coletados manualmente e acondicionados em sacos plásticos transparentes e úmidos. Os indivíduos coletados foram imediatamente transportados para o Laboratório de Zoologia de Vertebrados da Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Bahia, Brasil ou para o Centro de Estudos da Biodiversidade (CEB) da Reserva Ecológica Michelin, onde foram acondicionados em terrários (32 x 22 x 24 cm), com serrapilheira úmida para evitar desidratação, em número máximo de 10 indivíduos da mesma espécie por terrário e alocados em uma sala com temperatura controlada onde ocorreu a etapa de aclimação (ver tópico abaixo).

Determinação da tolerância térmica máxima (CT_{max}) das espécies-alvo

Os experimentos consistiram na determinação das tolerâncias térmicas máximas (CT_{max}) das espécies pelo método dinâmico de Hutchison (Lutterschmidt & Hutchison, 1997). Este método consiste no aumento gradual da temperatura até chegar a uma resposta fisiológica particular.

Antes de iniciar o experimento de CT_{max} os espécimes foram aclimatados em laboratório por dois dias a uma temperatura de 25°C, que equivale a temperatura média em seu habitat natural, e com fotoperíodo natural (12 horas claro-escuro). Esse processo é normalmente utilizado em estudos de tolerância térmica (e.g. Tejedo *et al.*, 2012), pois

neutraliza possíveis efeitos de perturbações fisiológicas associados a variações bruscas de temperatura, eliminando assim possíveis ruídos no resultado. Nenhum alimento foi ofertado aos exemplares durante a aclimatação.

Após o período de aclimatação, os espécimes foram acondicionados individualmente em recipientes plásticos (copos de 400 ml com 8,5 cm de diâmetro da boca x 5 cm de diâmetro na base x 11 cm de altura) com água declorada suficiente para manter o indivíduo sempre em contato com a água ($\cong 35$ ml). Para a manutenção dos indivíduos no copo e em constante contato com a água, foi utilizada uma rede de contenção (malha 5x1 mm) (Figura 1). Os recipientes contendo os espécimes foram colocados aleatoriamente em banho-maria e expostos à taxa de aquecimento constante a partir da temperatura de aclimatação (25°C), até apresentarem a resposta motora estabelecida para o final do experimento, ou seja, quando o indivíduo foi colocado sobre o dorso dentro do copo e não conseguiu voltar a sua posição original. A taxa de aquecimento lenta ($0,05^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$) foi utilizada por ser considerada ecologicamente mais relevante, pois assemelha-se com as taxas encontradas em ambiente natural (Tejedo *et al.*, 2012).

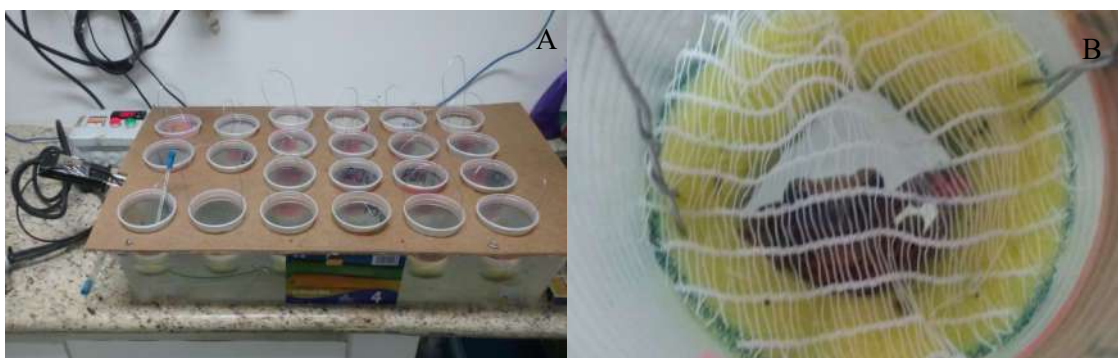


Figura 1. Acondicionamento das espécies para experimento de determinação da CT_{\max} . **A** = Acondicionamento dos copos no equipamento de Banho Maria; **B** = Acondicionamento dos espécimes no copo.

Para cada indivíduo, ao final do experimento, a temperatura da água foi medida com termômetro de leitura rápida (Miller & Weber, Inc; precisão de $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$), considerando-se a temperatura da água semelhante à temperatura do corpo (Tejedo *et al.*, 2012), e o indivíduo transferido para recipiente individual com água à temperatura de aclimação (25°C) para facilitar sua recuperação. Após o período de recuperação (24 h) os indivíduos foram pesados em balança analítica (Radwag, AS 220/C/2; $\pm 0,001$ g) para verificar possível relação entre peso e CT_{max} . Nos casos que não houve a recuperação do espécime, ou seja, o indivíduo morreu no intervalo das 24 h subsequentes ao experimento, o dado da CT_{max} obtido foi descartado da análise, pois este ultrapassou o limite máximo suportado pelo espécime.

Após o fim dos experimentos os espécimes foram sacrificados por meio de overdose de cloridato de lidocaína a 2% em forma de gel, seguindo o protocolo estabelecido pela portaria do Conselho Federal de Biologia nº 148/2012 e fixados em formalina 10% para posterior inclusão na Coleção Herpetológica da Universidade Estadual de Santa Cruz.

Determinação do perfil térmico da área amostrada

A caracterização do perfil térmico dos ambientes amostrados foi realizada mediante a instalação de *dataloggers* (HOBO Pendant temp/ligth, UA-002-64). Estes estavam programados para registrar a temperatura a cada 30 minutos e permaneceram nos sítios de junho a novembro de 2015. Eles foram instalados a 30 cm do solo para registrar a temperatura do ar e, sob a serrapilheira, sob e dentro de troncos caídos e dentro de buracos para registrar a temperatura de possíveis locais de refúgios utilizados pelas espécies de desenvolvimento direto. Quatro *dataloggers* foram instalados para registrar a temperatura do ar no interior da floresta, e um *datalogger* foi instalado em cada categoria de refúgio.

Estimativas da vulnerabilidade das espécies

A tolerância ao aquecimento atual (TA) foi calculada pela diferença entre a média de CT_{max} de cada espécie e a média das temperaturas máximas registradas nos *dataloggers* (T_{max}), considerando, separadamente, a média das temperaturas máximas do ar e dos prováveis refúgios.

Para calcular a tolerância ao aquecimento futuro (TAF) foram obtidos polígonos de distribuição de duas espécies (*Pristimantis paulodutra* e *Haddadus binotatus*) no banco de dados da IUCN (<http://iucnredlist.org>). Para as outras espécies criamos um shape com área de distribuição baseado no mínimo polígono convexo utilizando dados de ocorrência obtidos no Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Santa Cruz (MZUESC). Os polígonos foram quadriculados para uma resolução de $0,5^\circ \times 0,5^\circ$ para corresponder a resolução dos dados climáticos atuais e futuros. Em seguida, os dados de ocorrência das espécies foram sobrepostos com os dados climáticos (temperatura máxima do mês mais quente) e extraíram-se os valores de temperatura atual e futura para cada célula correspondente à área atual de distribuição de cada espécie. Utilizamos dados climáticos atuais e futuros de acordo com o CMIP5 (<http://cmip-pcmdi.llnl.gov>), a partir de um modelo de clima global acoplado atmosfera-oceano (AOGCMs): MIROC5 simulado para 2050 no cenário de emissões moderadas (RCP 8.5, ver Taylor et al., 2012)

Posteriormente foi calculada a diferença entre temperatura atual e futura dentro do intervalo de cada espécie (ΔT) que representa quantos graus Celsius estão previstos para aumentar em cada quadrícula da distribuição da espécie. Finalmente, foi considerado TAF como a diferença entre TA de cada espécie e ΔT . Portanto, cada célula tinha um valor de TAF, permitindo calcular uma tolerância ao aquecimento futuro média por espécie.

Os valores de TAF foram projetados dentro do polígono de distribuição de cada espécie e dentro dos polígonos das áreas de remanescentes florestais da Mata Atlântica (SOS Mata Atlântica) para verificar em quais regiões as espécies se encontram mais vulneráveis em um cenário futuro.

Análise estatística

Os valores de CT_{max} das espécies foram comparados através de Análise de Covariância (ANCOVA), sendo a CT_{max} a variável dependente, a espécie o fator fixo e a massa o cofator. Foi realizado teste *post hoc* de Tukey para avaliar quais espécies possuem CT_{max} significativamente diferentes. As possíveis diferenças entre as temperaturas do ar e dos refúgios foram verificadas pela Análise de Variância (ANOVA). Estas análises foram realizadas em programa estatístico R (versão 3.1.3) carregado com os pacotes "multcomp" (Hothorn *et al.*, 2008) e "gplots" (Warnes *et al.*, 2015). Para as análises foi considerado um nível de significância de 0,05.

Teste para Independência Serial (TFSI) foi realizado para avaliar se o limite térmico das espécies é um caráter associado à sua história filogenética. A análise foi realizada utilizando o programa *Phylogenetic Independence 2.0* (Reeve & Abouheif, 2003). As árvores foram montadas considerando as filogenias mais recentes para famílias e gêneros (Padial *et al.*, 2012) e as espécies que não apresentam filogenia estabelecida foram substituídas pelas espécies consideradas filogeneticamente mais próximas.

Resultados

A temperatura do ar e dos refúgios apresentou diferença significativa (ANOVA: $F=69,14$; $df=7$; $p<0,01$; Figura 2). A temperatura do ar apresentou média de $21,92^{\circ}\text{C}$ ($sd \pm 2,11$; $16,49 - 31,1^{\circ}\text{C}$). Entre os possíveis refúgios amostrados, nichos sob troncos caídos apresentou menor média de temperatura: $22,60^{\circ}\text{C}$ ($sd \pm 1,44$; $19,09 - 26,39$), enquanto a maior média: $23,51^{\circ}\text{C}$ ($sd \pm 1,33$; $20,23 - 27,17$) foi registrada no interior do tronco de árvores. A serrapilheira, que representa a categoria com maior disponibilidade de área para refúgios, teve temperatura média de $22,95^{\circ}\text{C}$ ($sd \pm 1,46$; $18,71 - 26,78$). Quando considerado o horário de maior atividade das espécies (17:00 às 05:00), a temperatura do ar apresentou valor médio de $21,16^{\circ}\text{C}$ ($sd \pm 1,43$; $16,80 - 26,58$) e nos refúgios apresentou média de $23,00^{\circ}\text{C}$ ($sd \pm 1,25$; $19,91 - 26,11$). Para os horários que as espécies encontram-se abrigadas (05:00 às 17:00) a temperatura do ar apresentou média de $22,55^{\circ}\text{C}$ ($sd \pm 2,32$; $16,23 - 31,67$) e nos refúgios apresentou média de $23,19$ ($sd \pm 1,33$; $19,73 - 26,39$).

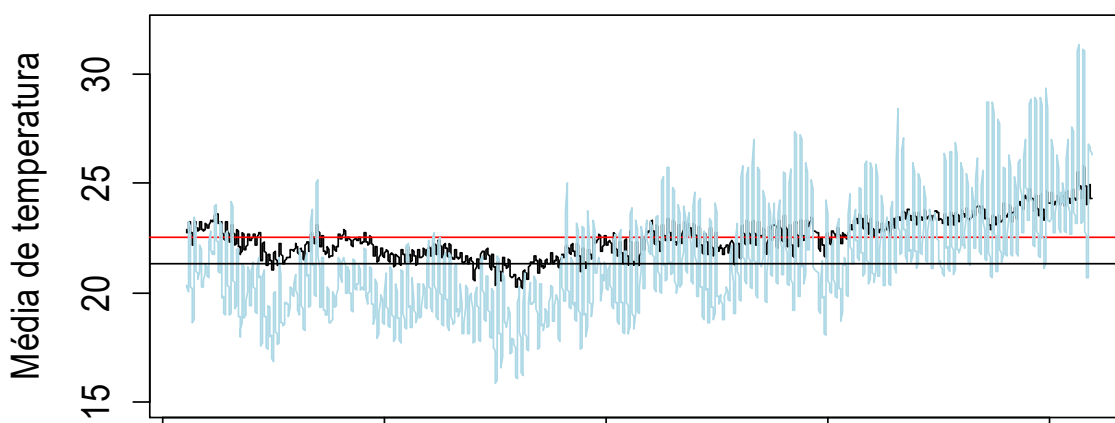


Figura 2. Perfis térmicos do ar (linha azul) e refúgios (linha preta) (10 de Junho a 27 de novembro de 2015). Linhas horizontais representam a temperatura média (vermelha = refúgios e preta = ar).

Entre as espécies avaliadas houve diferença significativa na CT_{max} (ANCOVA: $F= 16, 61, df= 8, p<0,01$; Figura 3), estando a menor média representada por *Pristimantis* sp. 1 ($30,24^{\circ}C$) e a maior por *P.* sp. 2 ($33,22^{\circ}C$) (tabela 2). A análise de independência filogenética indicou que não há autocorrelação filogenética entre as CT_{max} das espécies ($C=0,1714$ $p=0,1140$).

Considerando a média das temperaturas máximas do ar para análise de tolerância ao aquecimento (TA), apenas *Adelophryne* sp. 1, *A.* sp. 2, *Pristimantis paulodutra* e *P.* sp. 2 apresentaram TA positiva. Quando estimada a tolerância ao aquecimento tendo como base a média da temperatura máxima dos refúgios todas as espécies avaliadas apresentaram TA positiva (Tabela 2).

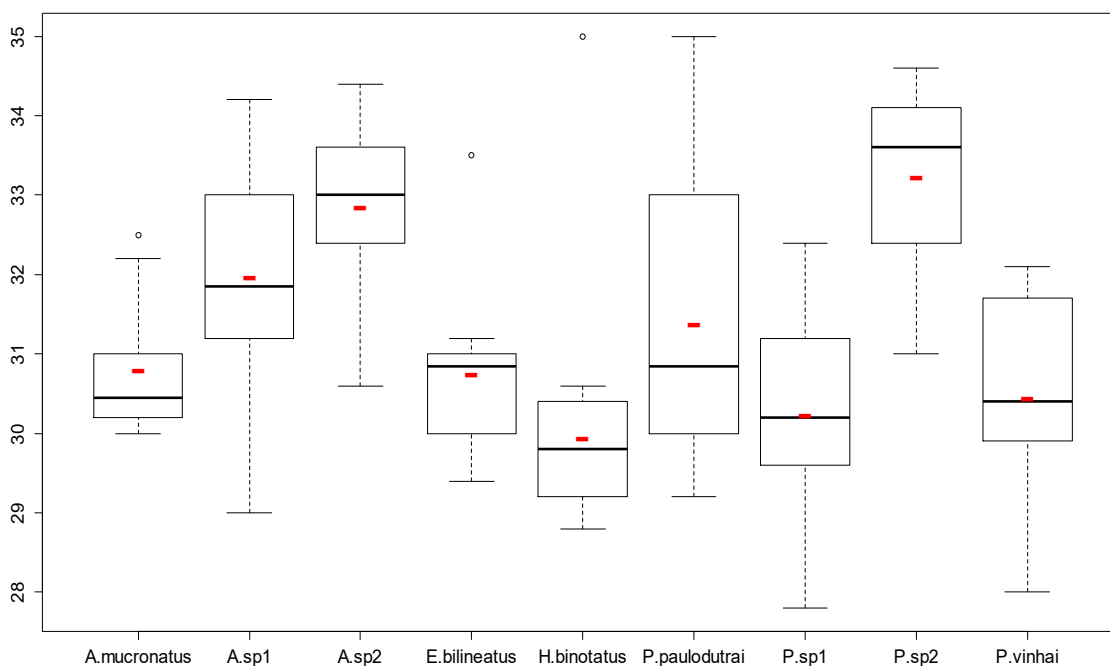


Figura 3. Variação entre as CT_{max} das espécies estudadas na Mata Atlântica do sul da Bahia.

A análise de vulnerabilidade ao aquecimento projetada para o ano de 2050, no cenário RCP 8,5, apresentou uma TAF calculada com valores positivos para todas as espécies dentro do polígono de distribuição atual (Tabela 2). Contudo, quando estes valores de TAF foram projetados dentro do polígono de distribuição das espécies, observa-se que a porção noroeste de cada polígono é a região que apresenta os menores valores, e para os *Pristimantis* (exceto *P. sp. 2*) a porção sul também apresenta valores críticos. As TAF observadas apenas dentro dos remanescentes de Mata Atlântica não indicaram diferença da TAF projetada para todo o polígono de distribuição das espécies avaliadas (Figuras 4 a 11).

Tabela 2. Média de CT_{max} e tolerância ao aquecimento considerando temperaturas do presente e projetadas para o futuro. Sd: desvio padrão TA: tolerância ao aquecimento, TAF: tolerância ao aquecimento futuro

| Espécie | N | CT_{max} ($\pm 1sd$) | TA temperatura do ar | TA temperatura dos refúgios | TAF ($\pm 1sd$) |
|------------------------|----|-----------------------------|-------------------------|--------------------------------|----------------------|
| <i>A. mucronatus</i> | 10 | 30,79 | -0,41 | 4,62 | 2,52 ($\pm 0,109$) |
| <i>A. sp. 1</i> | 28 | 31,96 | 0,76 | 5,79 | 4,58 ($\pm 0,037$) |
| <i>A. sp. 2</i> | 17 | 32,84 | 1,64 | 6,67 | 4,51 ($\pm 0,098$) |
| <i>E. bilineatus</i> | 14 | 30,74 | -0,46 | 4,57 | 2,39 ($\pm 0,147$) |
| <i>H. binotatus</i> | 33 | 29,94 | -1,26 | 3,77 | 1,97 ($\pm 0,308$) |
| <i>P. paulodutraii</i> | 22 | 31,38 | 0,18 | 5,21 | 3,11 ($\pm 0,200$) |
| <i>P. sp. 1</i> | 22 | 30,24 | -0,96 | 4,07 | 1,91 ($\pm 0,144$) |
| <i>P. sp. 2</i> | 8 | 33,22 | 2,02 | 7,05 | 4,89 ($\pm 0,107$) |
| <i>P. vinhai</i> | 24 | 30,44 | -0,76 | 4,27 | 2,08 ($\pm 0,145$) |

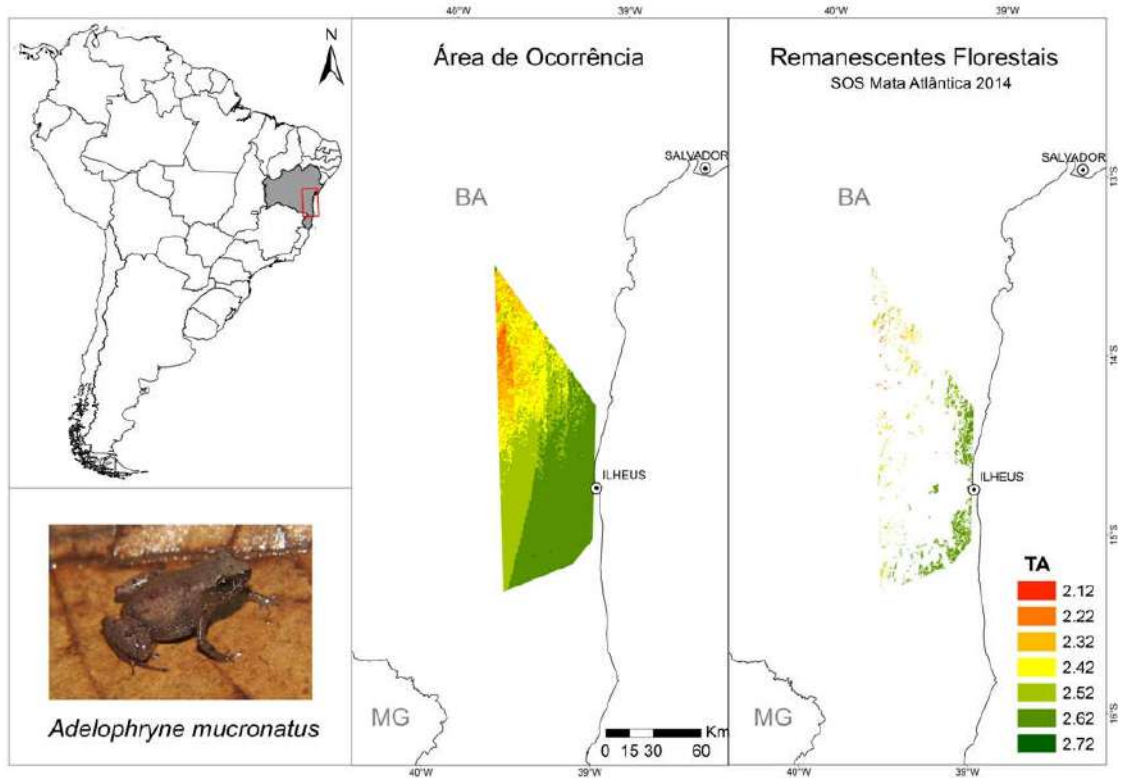


Figura 4. Relação entre a tolerância termal futura e distribuição de *Adelophryne mucronatus*.

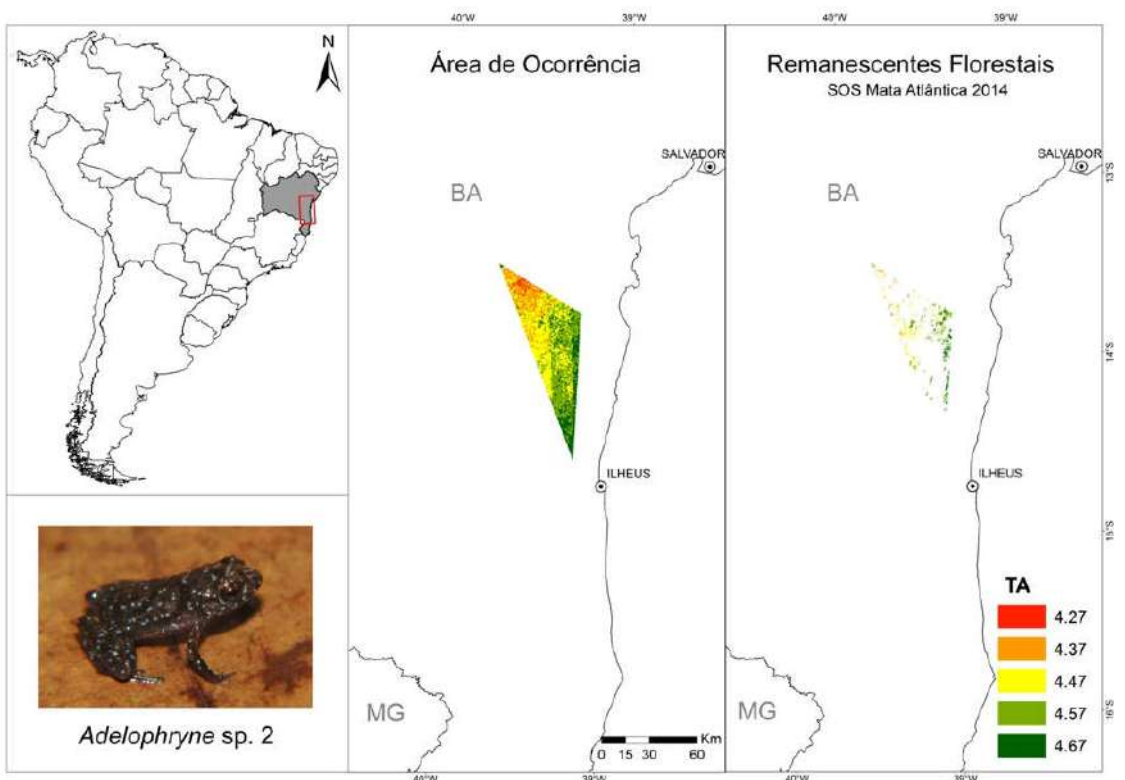


Figura 5. Relação entre a tolerância termal futura e distribuição de *Adelophryne sp. 2*

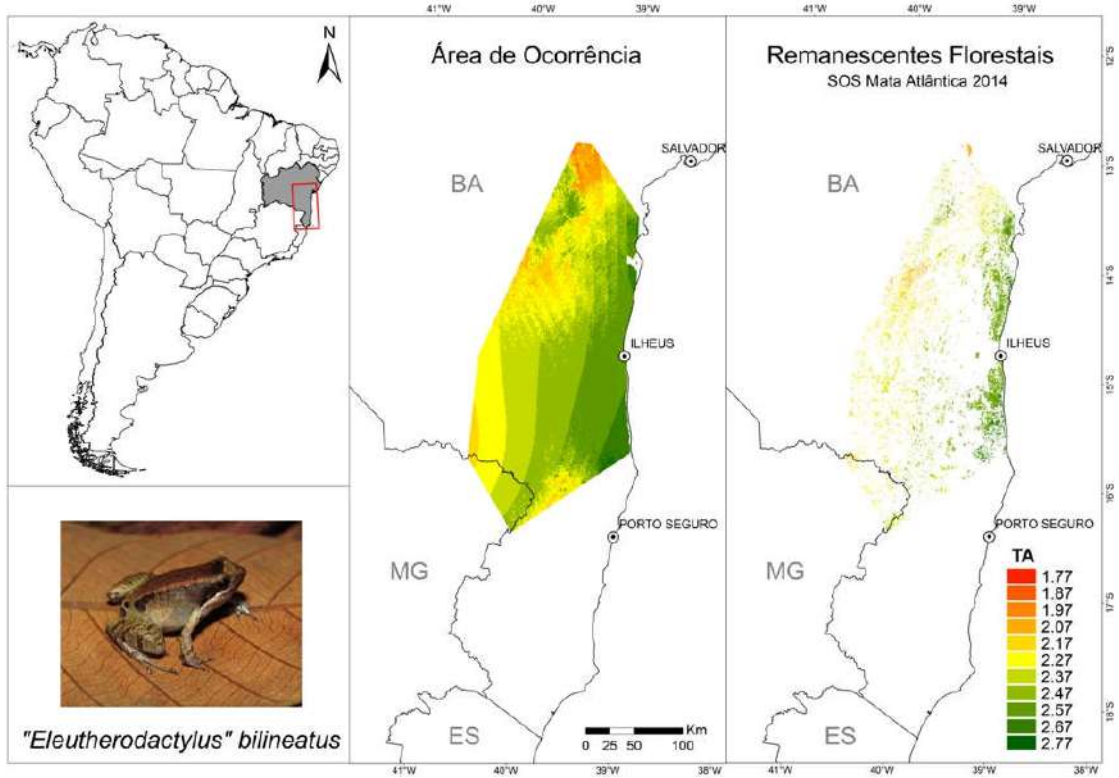


Figura 6. Relação entre a tolerância termal futura e distribuição de *Eleutherodactylus bilineatus*.

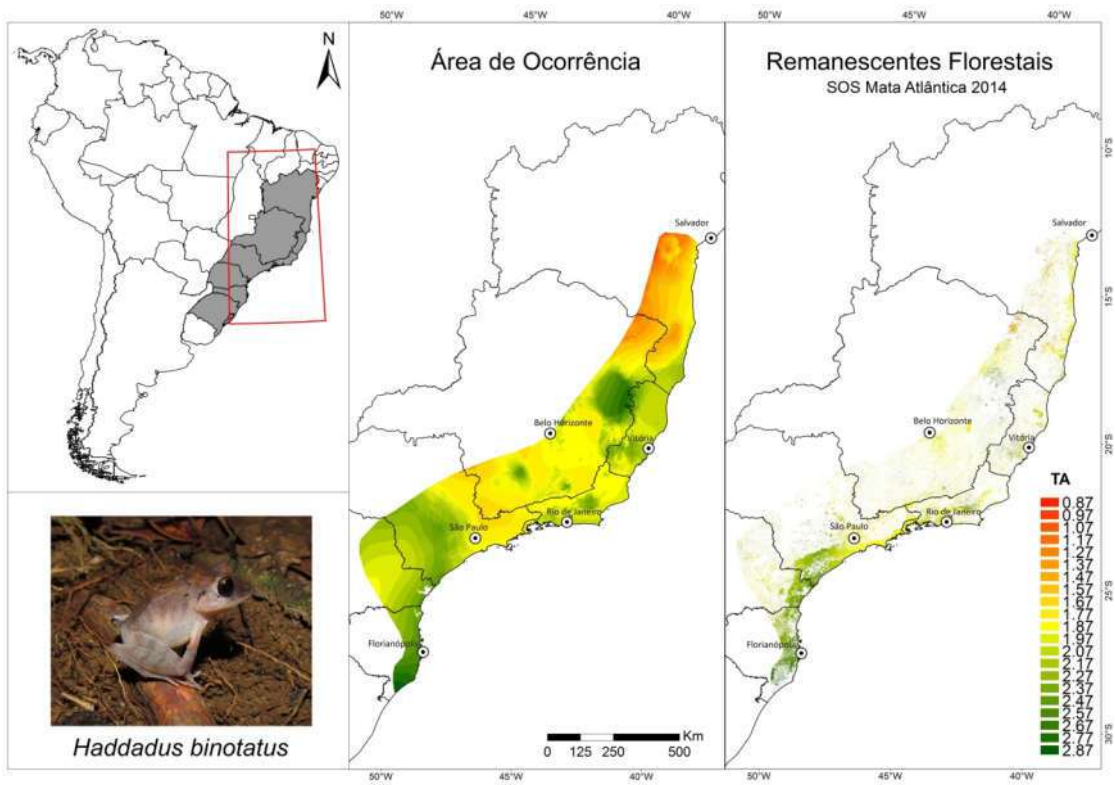


Figura 7. Relação entre a tolerância termal futura e distribuição de *Haddadus binotatus*.

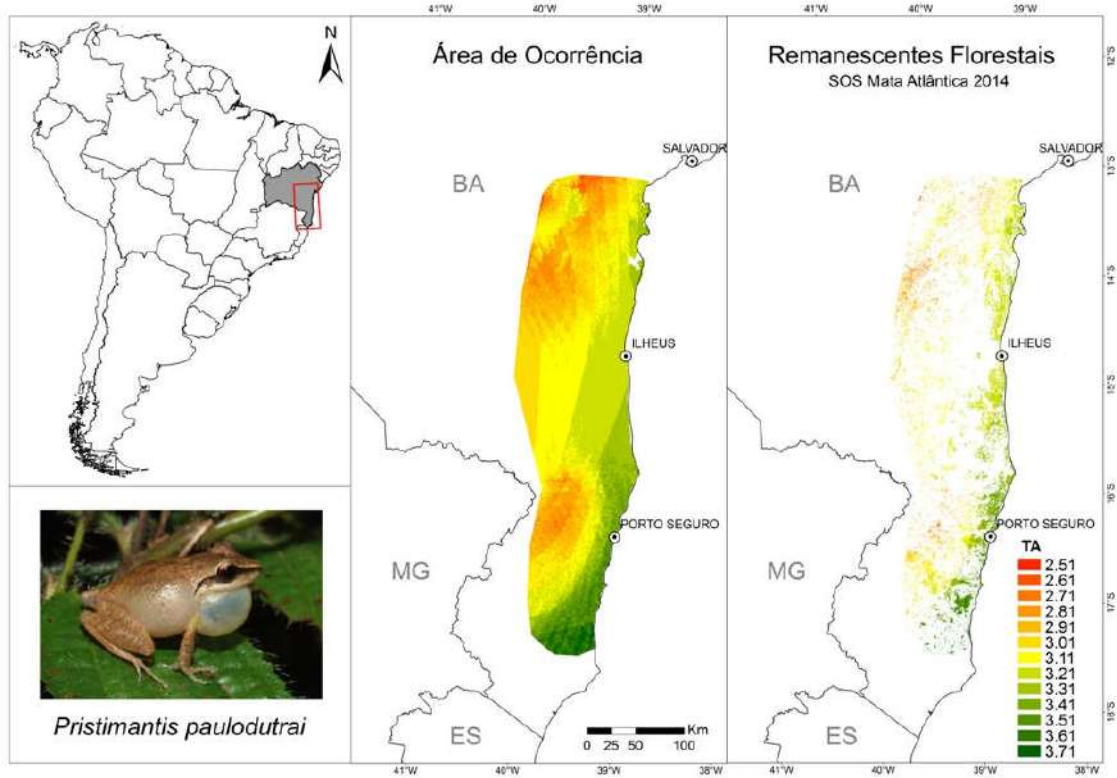


Figura 8. Relação entre a tolerância termal futura e distribuição de *Pristimantis paulodutraei*.

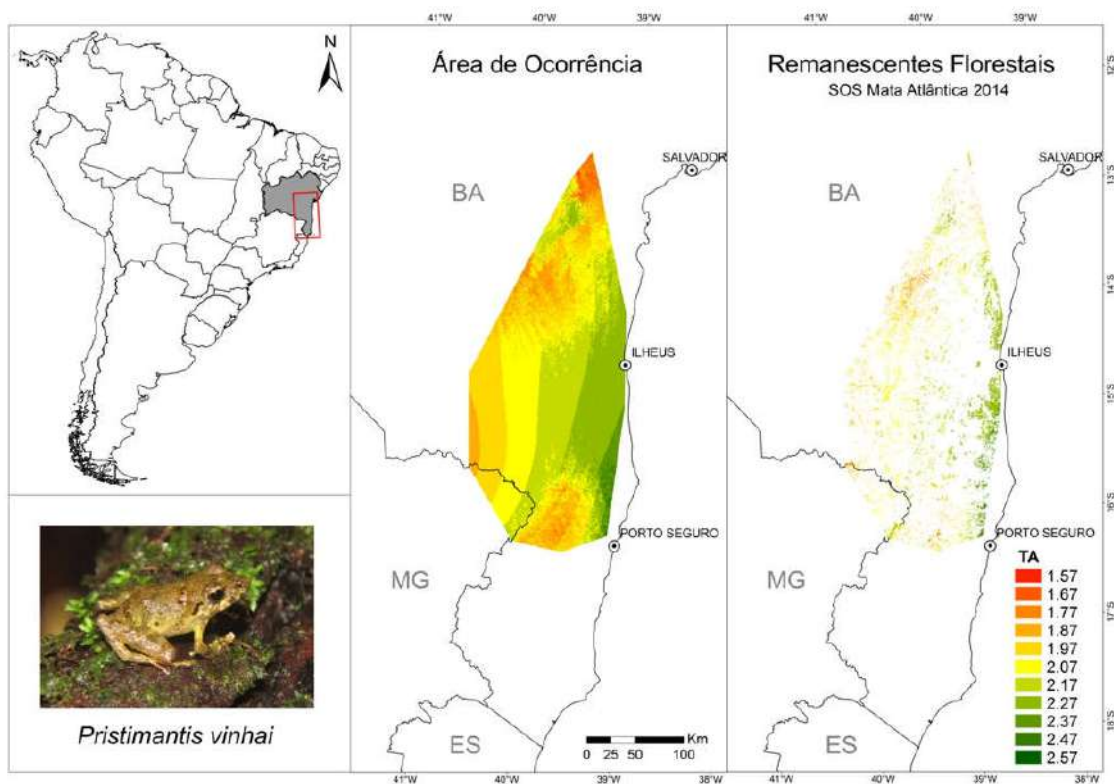


Figura 9. Relação entre a tolerância termal futura e distribuição de *Pristimantis vinhai*.

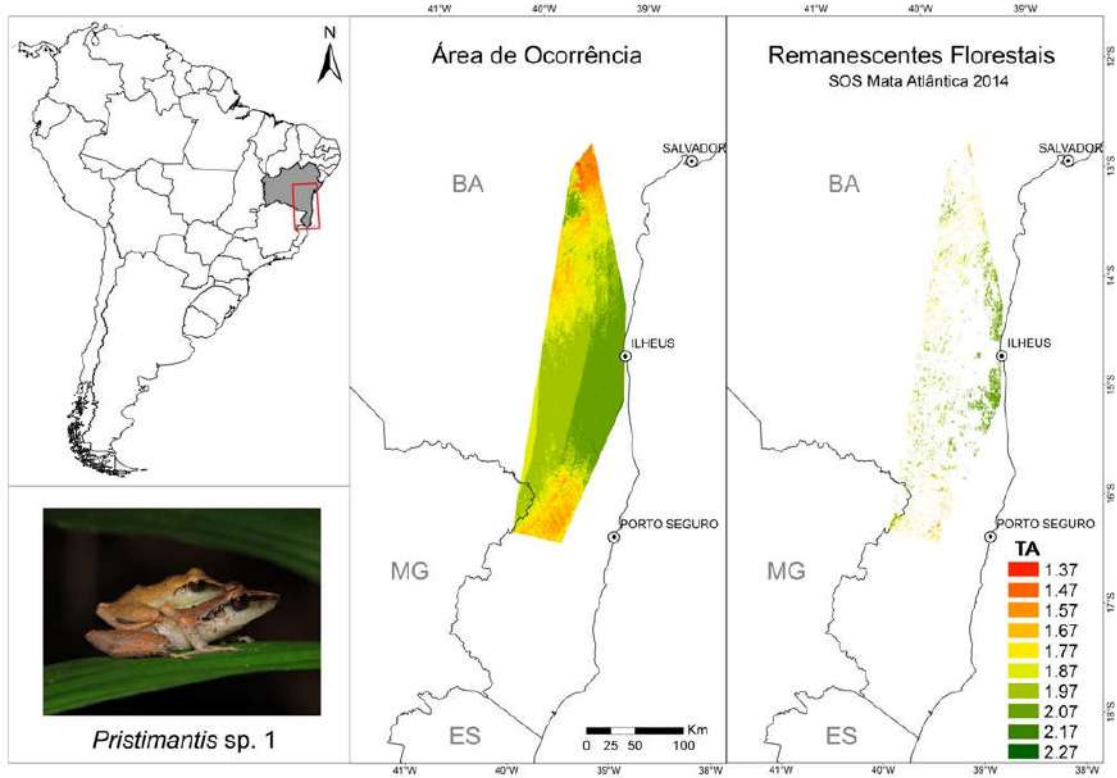


Figura 10. Relação entre a tolerância termal futura e distribuição de *Pristimantis sp.1*.

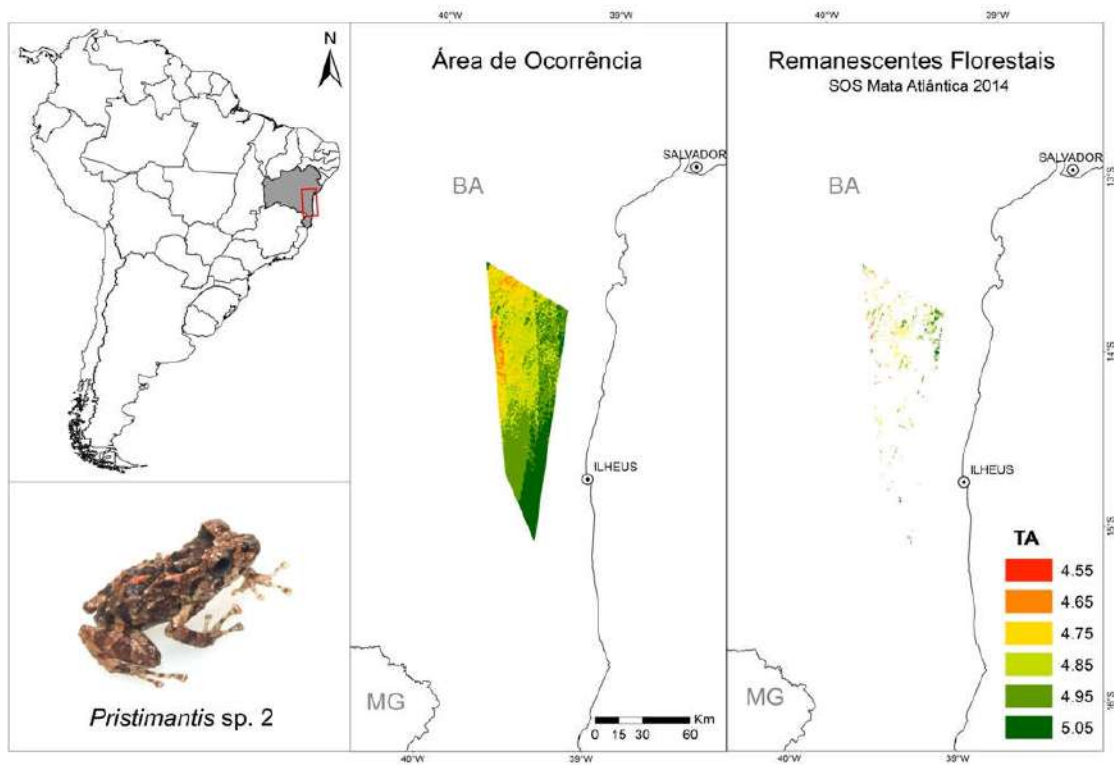


Figura 11. Relação entre a tolerância termal futura e distribuição de *Pristimantis sp.2*.

Discussão

A CT_{max} alcançada pelos adultos neste estudo (29,94 - 33,22°C) foi mais baixa que as observadas em adultos de espécies que apresentam fase larval avaliados na região tropical (Alves *et al.*, no prelo) e sub-tropical (Sanabria *et al.*, 2012; Sanabria *et al.*, 2013). Desta forma, as espécies com desenvolvimento direto estudadas apresentam CT_{max} mais baixa, o que as tornam, de maneira geral, mais ameaçadas e vulneráveis ao aumento de temperatura.

Quanto às possíveis variações inter-específicas é sugerido que características térmicas sejam evolutivamente conservadas e mostrem pouca variação em táxons relacionados filogeneticamente (Huey, 1982; Hof *et al.*, 2010; Olalla-Tárraga *et al.*, 2011; Hoffmann *et al.*, 2013; Gouveia *et al.*, 2014). Desta forma, quando partilhando um ambiente térmico comum, taxóns filogeneticamente próximos teriam tolerâncias térmicas semelhantes. Entretanto, esta relação filogenética tende a ser mais forte à tolerância ao frio (Olalla-Tárraga *et al.*, 2011) e moderada a fraca na tolerância ao calor (Gutiérrez-Pesquera *et al.*, 2016). O presente estudo mostrou que, embora as CT_{max} apresentem valores absolutos próximos, estas foram significativamente diferentes, filogeneticamente independentes e com alta variação em taxons relacionados. Tal resultado corrobora com resultados anteriores, em que não foi encontrado sinal filogenético em comunidades de anfíbios ibéricas, da Argentina (Katzenberger, 2009) e do Brasil (Alves, no prelo). Isso indica que a CT_{max} pode ser influenciada por características específicas de cada espécie e pelo nicho utilizado, que às expõe a variações de temperaturas diferentes, levando cada espécie a uma adaptação térmica.

Estudo desenvolvido por Mendes (2016), avaliando assembléia de anuros na Mata Atlântica em florestas com diferentes níveis de perturbação dentro da Reserva Ecológica da Michelin, demonstrou que espécies como *Adelophryne mucronatus*, “*Eleutherodactylus*”*bilineatus*, *Pristimantis vinhai* e *P. sp. 1*, que apresentaram as menores

CT_{max} , só foram encontradas em florestas com baixo grau de perturbação, ao passo que *Pristimantis paulodutra* e *Adelophryne* sp. 2, que estão entre as espécies que apresentaram maior CT_{max} , ocupam ambientes florestados com alto grau de perturbação, como florestas pioneiras. Este potencial de ocupação de áreas perturbadas expressados por espécies com maior CT_{max} pode ser em decorrência de uma maior tolerância à altas temperaturas, pois ambientes perturbados estão mais expostos a entrada de luminosidade o que, conseqüentemente, pode levar a um aumento de temperatura no microambiente excluindo espécies que apresentam baixa CT_{max} . Entretanto essa afirmação deve ser considerada com cautela, ao passo que outros fatores (e.g. umidade, sensibilidade à desidratação e disponibilidade de presas) também podem agir em sinergia com a temperatura e inibir a ocupação dos ambientes pelas espécies (Claussen, 1969; Pough & Wilson, 1970; Titon *et al.*, 2010).

Pristimantis sp. 2, que apresentou a maior CT_{max} , foi encontrado em maior abundância nas áreas de altitude. Por este motivo esperava-se que esta espécie tivesse menor CT_{max} por experimentar temperaturas mais amenas. Contudo, todos os indivíduos coletados estavam refugiados ou estabelecendo seus sítios de canto em bromélias. Possivelmente esta espécie utiliza a bromélia como seu nicho realizado. Com isso sua tolerância térmica deve estar adaptada para lidar com este microambiente.

Quando verificada a vulnerabilidade das espécies, considerando a média das temperaturas máximas do ar, observou-se que algumas das espécies avaliadas (*A. mucronatus*, *E. bilineatus*, *Haddadus binotatus*, *P. vinhai* e *P.* sp. 1), potencialmente, experimentam temperaturas acima de seus limites térmicos. Contudo, quando consideradas as temperaturas do horário de atividade das espécies (17:00 – 05:00), observa-se que as mesmas estão expostas a temperaturas do ar mais amenas (máxima = 26,58 °C) o que permite forragearem sem risco de estresse térmico. Durante o dia, quando há registro de temperaturas próximas ou

superiores aos limites térmicos das espécies (máxima = 31,6°C), as mesmas se encontram abrigadas em seus refúgios, que apresentam temperaturas cerca de 4°C abaixo da temperatura do ar evitando assim o estresse térmico durante o dia.

Atualmente o mecanismo comportamental de buscar por refúgios para suportar os dias mais quentes é eficiente. Contudo, quando considerada a projeção de aquecimento (~ 2°C - IPCC, 2014) a condição mostra-se alarmante, pois algumas espécies, mesmo em seus refúgios diurnos, poderão experimentar temperaturas superiores a seus limites térmicos superiores. Além disso, as temperaturas do ar durante o período de forrageamento das espécies poderão atingir níveis superiores ao tolerado pelas espécies, obrigando as mesmas a se refugiarem durante o período de atividade. Isso pode acarretar efeito negativo sobre o *fitness* das espécies, pois as mesmas sofrerão estresse térmico durante o período de repouso e terão menos tempo para atividades biológicas básicas como alimentação e reprodução. Caso esta projeção se confirme, as espécies avaliadas poderão estar criticamente ameaçadas por eventos letais associados ao aumento da temperatura. Entretanto, estudo avaliando a tolerância termal de *Odontophrynus occidentalis* sob o efeito da sazonalidade no deserto do Monte, na província de San Juan, Argentina, concluiu que existe um mecanismo de aclimatização sazonal eficaz que permite a espécie aumentar sua tolerância térmica durante o período mais quente (Sanabria *et al.*, 2013). Assim, estudos envolvendo o mecanismo de aclimatização devem ser desenvolvidos para as espécies avaliadas neste estudo para verificar o potencial de ajuste da CT_{max} em função da aclimatização.

A análise do mapa de vulnerabilidade ao aquecimento futuro indica que, em algumas regiões, espécies como *H. binotatus*, *E. bilineatus*, *P. vinhai* e *P. sp 1* experimentarão temperaturas muito próximas de suas CT_{max} . Isso pode levar a exclusão dessas espécies em determinados locais, uma vez que não conhecemos o nível de tolerância térmica das espécies quando expostas a temperaturas próximas às suas CT_{max} por longos períodos. Além do

aumento da temperatura, é esperada uma redução da ocorrência de chuvas, resultando em hidroperíodos mais curtos para o cenário futuro (IPPC, 2014). Portanto, a interação destes fatores poderá levar a um menor índice de umidade nestas regiões o que expõe as espécies a um maior risco de desidratação o que, conseqüentemente, pode reduzir a tolerância térmica das espécies (Claussen, 1969; Pough & Wilson, 1970).

Para melhor compreensão da vulnerabilidade dos anuros ao aquecimento global é necessário ampliar os conhecimentos sobre a fisiologia térmica na fase adulta, pois, os ambientes distintos (terrestres e aquáticos) explorados pelos adultos e girinos oferecem diferentes oportunidades para termorregulação e os expõe a diferentes pressões seletivas o que pode levá-los a ter diferentes tolerâncias térmicas. Assim, estudos utilizando a fase adulta agregarão conhecimento para as espécies que apresentam desenvolvimento direto, bem como complementarão as informações para as espécies que apresentam desenvolvimento larvário, permitindo avaliar de forma mais robusta a vulnerabilidade dos anfíbios. Também é de suma importância entender como as espécies se comportam quando expostas por muito tempo a temperaturas próximas as suas CT_{max} , bem como avaliar o desenvolvimento e a viabilidade dos embriões de espécies de desenvolvimento direto com o aumento da temperatura.

Referências

Almeida-Gomes M, Vrcibradic D, Siqueira CC, Kiefer MC, Klaion T, Almeida-Santos P, Nascimento D, Ariani CV, Borges-Júnior VNT, Freitas-Filho RF, Vansluys M, Rocha CFD (2008) Herpetofauna of an Atlantic Rainforest area (Morro São João) in Rio de Janeiro State, Brazil. An. Acad. Bras. Ciênc, 80(2),291-300.

Alves M, (no prelo) Vulnerabilidade de espécies de anfíbios anuros neotropicais do gênero *Dendropsophus* ao aquecimento e diferença ontogenética e inter-específica na tolerância das espécies.

- Angilletta MJ, Cooper BS, Schuler MS, Boyles JG (2002) The evolution of thermal physiology in ectotherms. *Frontiers in bioscience (elite edition)*, **27**, 249–268.
- Beebee TJC (1995) Amphibian breeding and climate. *Nature*, **374**, 219–220.
- Blaustein AR, Belden LK, Olson DH, Green DM, Root TL; Kiesecker JM (2001) Amphibian breeding and climate change. *Conservation Biology*, **15**, 1804–1809.
- Blaustein AR, Walls SC, Bancroft B a., Lawler JJ, Searle CL, Gervasi SS (2010) Direct and Indirect Effects of Climate Change on Amphibian Populations. *Diversity*, **2**, 281–313.
- Brattstrom BH (1968) Thermal acclimation in anuran amphibians as a function of latitude and altitude. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **24**, 93–111.
- Brattstrom BH (1970) Thermal acclimation in Australian amphibians. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **35**, 69–103.
- Brook BW, Sodhi NS, Bradshaw CJ (2008) Synergies among extinction drivers under global change. *Trends in ecology and evolution*, **23**, 453–60.
- Burggren, W. W. and Warburton, S. (2007) Amphibians as Animal Models for Laboratory Research in Physiology. *ILAR Journal*. **48**, 260–269.
- Carey C, Alexander MA (2003) Climate change and amphibian declines: is there a link? *Diversity and Distributions*, **9**, 111–121.
- Claussen DL. (1969) Studies on water loss and rehydration in anurans. *Physiol Zool* **42**: 1–14.
- Cossins AR, Bowler K (1987) *Temperature Biology of Animals*. Chapman and Hall, London. Pp 327.
- Cowles R, Bogert C (1944) A preliminary study of the thermal requirements of desert lizards. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, **83** 265–296.
- D'amen M, Bombi P (2009) Global warming and biodiversity: Evidence of climate-linked amphibian declines in Italy. *Biological Conservation*, **142**, 3060–3067.
- Deutsch CA, Tewksbury JJ, Huey RB, Sheldon KS, Ghalambor CK, Haak DC et al. (2008) Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **105**, 6668–6672.
- Duarte H, Tejedo M, Katzenberger M *et al.* (2012) Can amphibians take the heat? Vulnerability to climate warming in subtropical and temperate larval amphibian communities. *Global Change Biology*, **18**, 412–421.
- Dunson WA, Travis J (1991) The role of abiotic factors in community organization. *The American Naturalist*, **138**, 1067–1091.
- Floyd RB. (1983). Ontogenetic change in the temperature tolerance of larval *Bufo marinus* (Anura:Bufonidae). *Comparative Biochemistry and Physiology*, **75A**, 267–271.

- Fouquet A, Ficetola GF, Haigh A, Gemmell N (2010) Using ecological niche modelling to infer past, present and future environmental suitability for *Leiopelma hochstetteri*, an endangered New Zealand native frog. *Biological Conservation*, **143**, 1375–1384.
- Gouveia SF, Hortal J, Tejedo M, Duarte H, Cassemiro FAS, Navas CA, Diniz-Filho JAF (2014) Climatic niche at physiological and macroecological scales: the thermal tolerance geographical range interface and niche dimensionality. *Global Ecology and Biogeography*, **23**, 446–456.
- Gutiérrez-Pesquera LM, Tejedo M, Olalla-Tárraga MA, Duarte H, Nicieza A, Solé (2016) Testing the climate variability hypothesis in thermal tolerance limits of tropical and temperate tadpoles. *Journal of Biogeography*, 1-13.
- Haddad CFB, Toledo LF, Prado CPA, Loebmann D, Gasparini JL, Sazima I (2013) Guia dos anfíbios da Mata Atlântica – diversidade e biologia, pp 544. Anolis Books, São Paulo.
- Herreid II CF, Kinney S (1967) Temperature and development of the wood frog, *Rana sylvatica*, in Alaska. *Ecology*, **48**, 579–590.
- Hochachka PW, Somero GN. (2002). *Biochemical Adaptation: Mechanism and process in physiological evolution*. Oxford, UK: Oxford University Press.
- Hof C, Rahbek C, Araújo MB (2010) Phylogenetic signals in the climatic niches of the world's amphibians. *Ecography*, **33**, 242–250.
- Hoffmann AA, Chown SL, Clusella-Trullas S (2013) Upper thermal limits in terrestrial ectotherms: how constrained are they? *Functional Ecology*, **27**, 934–949.
- Hoffmann M, Hilton-Taylor C, Angulo A *et al.* (2010) The impact of conservation on the status of the world's vertebrates. *Science*, **330**, 1503–1509.
- Hothorn T, Bretz F, Westfall P (2008) Simultaneous Inference in General Parametric Models. *Biometrical Journal*, **50**, 346-363.
- Huey RB (1982) Temperature, physiology, and the ecology of reptiles. In: *Biology of the Reptilia* (eds Gans C, Pough FH). PP. 25-91. Academic Press, London.
- Huey RB, Deutsch CA, Tewksbury JJ *et al.* (2009) Why tropical forest lizards are vulnerable to climate warming. *Proceedings Biological Sciences The Royal Society*, **276**, 1939–1948.
- Huey RB, Stevenson RD. (1979). Integrating physiology and ecology of ectotherms: a discussion of approaches. *American Zoologist* **19**, 357–366.
- Hutchison VH (1961) Critical thermal maxima in salamanders. *Physiological Zoology*, **34**, 92–125.
- IPCC (2014) *Climate change 2014: impacts, adaptation, and vulnerability, Contribution of Working Group II to the 5th Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, Cambridge University Press, Cambridge.
- IUCN (2015) *The IUCN Red List of threatened species, Version 2015.1*. <http://www.iucnredlist.org> (accessed 19.11.15).

- Katzenberger MJ (2009) Thermal Tolerance and Sensitivity of Amphibian Larvae from Palearctic and Neotropical Communities. Master Thesis. Universidade de Lisboa, Portugal.
- Lawler JJ, Shafer SL, Bancroft BA, Blaustein AR (2009) Projected Climate Impacts for the Amphibians of the Western Hemisphere. *Conservation Biology*, **24**, 38–50.
- Loyola RD, et al. 2012. Climate change might drive species into reserves: a case study of the American Bullfrog in the Atlantic Forest Biodiversity Hotspot. *Alytes*, **29**, 61-74.
- Loyola RD, et al. 2013 A straightforward conceptual approach for evaluating spatial priorities under climate change. *Biodiversity and Conservation*, **22**, 483-495.
- Loyola RD, Lemes P, Brum FT, Provete DB, Duarte LDS (2014) Clade-specific consequences of climate change to amphibians in Atlantic Forest protected areas. *Ecography*, **37**, 65–72.
- McCarty JP (2001) Ecological Consequences of Recent Climate Change. *Conservation Biology*, **15**, 320–331.
- Mendes CVM (2016) Replacement of leaf litter amphibian species in rubber plantation and in a chronosequence of tropical secondary forest in southern Bahia, Brazil
- Nori J, Lemes P, Urbina-Cardona N, Baldo D, Lescano J, Loyola R (2015) Amphibian conservation, land-use changes and protected areas: A global overview. *Biological Conservation*, **191**, 367–374.
- Olalla-Tarraga MA, McInnes L, Bini LM, Diniz-Filho JAF, Fritz SA, Hawkins BA, Hortal J, Orme CDL, Rahbek C, Rodríguez MÁ, Purvis A (2011) Climatic niche conservatism and the evolutionary dynamics in species range boundaries: global congruence across mammals and amphibians. *Journal of Biogeography*, **38**, 2237–2247.
- Padial JM, Grant T, Frost DR (2014) Molecular systematics of terraranas (Anura: Brachycephaloidea) with an assessment of the effects of alignment and optimality criteria. *Zootaxa*. **3825**, 01-132
- Parmesan C (2006) Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, **37**, 637–669.
- Pereira HM, Leadley PW, Proença V *et al.* (2010) Scenarios for global biodiversity in the 21st century. *Science*, **330**, 1496–1501.
- Pimm SL, Jenkins CN, Abell R *et al.* (2014) The biodiversity of species and their rates of extinction, distribution, and protection. *Science*, **344**, 1246752.
- Pombal Jr JP, Haddad CFB (2005) Strategies and reproductive modes of anurans (Amphibia) in a permanent pond in Serra de Paranapiacaba, southeastern Brazil. *Papéis Avulsos de Zoologia*, **45**, 201-213.
- Pough FH, Wilson RE (1970) Natural daily temperature stress, dehydration, and acclimation in juvenile *Ambystoma maculatum* (Shaw) (Amphibia: Caudata). *Physiol. zool* **43**, 194-205.

Pounds JA, Bustamante MR, Coloma L *et al.* (2006) Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming. *Nature*, **439**, 161–7.

Prates I, Angilleta MJ, Wilson RS, Niehaus AC, Navas C (2013) Dehydration hardly slows hopping toads (*Rhinella granulosa*) from xeric and mesic environments. *Physiological and biochemical zoology*, **86**, 451–7.

Reeve J, Abouheif E (2003) *Phylogenetic Independence*, v. 2.0, computer program, Department of Biology, McGill University, Montreal.

Rocha CFD, Vrcibradic D, Kiefer MC, Almeida-Gomes M, Borges-Júnior VNT, Menezes VA, Ariani CV, Pontes JAL, Goyannes-Araújo P, Marra RV, Guedes DM, Siqueira CC, Vansluys M (2013) The leaf-litter frog community from Reserva Rio das Pedras, Mangaratiba, Rio de Janeiro State, Southeastern Brazil: species richness, composition and densities. *North-West. J. Zool*, **9**, 151-156.

Rödder D, Weinsheimer F (2009) Will future anthropogenic climate change increase the potential distribution of the alien invasive Cuban treefrog (*Anura: Hylidae*)? *Journal of Natural History*, **43**, 1207–1217.

Root TL, Price JT, Hall KR, Schneider SH, Rosenzweig C, Pounds JA (2003) Finger-prints of global warming on wild animals and plants. *Nature*, **421**, 57–60.

Sala OE, Chapin IFS, Armesto JJ, Berlow E, Bloomfield J, Dirzo R, Huber Sanwald, E, Huenneke LF, Jackson RB, Kinzig A, Leemans R, Lodge DH, Mooney HA, Oesterheld M, Leroy Poff N, Sykes MT, Walker BH, Walker M, Wall DH (2000) Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science*, **287** (5459), 1770–1774

Sanabria E, Quiroga LB, Martino AL. (2012) Seasonal changes in the thermal tolerances of the toad *Rhinella arenarum* (Bufonidae) in the Monte Desert of Argentina. *Journal of Thermal Biology* **37**(6):409–412.

Sanabria E, Quiroga L, Martino A (2013) Seasonal changes in the thermal tolerances of *Odontophrynus occidentalis* (Berg, 1896) (*Anura: Cycloramphidae*). *Belgian Journal of Zoology*, **143**, 23–29.

Schulte PM, Healy TM, Fangué N (2011) Thermal performance curves, phenotypic plasticity, and the time scales of temperature exposure. *Integrative and comparative biology*, **51**, 691–702.

Sherman E. (1980) Ontogenetic change in the thermal tolerance of the toad *Bufo woodhousii fowleri*. *Comp. Biochem. Physiol.* **65A**, 227–230.

Simon MN, Ribeiro PL, Navas CA (2015) Upper thermal tolerance plasticity in tropical amphibian species from contrasting habitats: Implications for warming impact prediction. *Journal of Thermal Biology*, **48**, 36–44.

Siqueira CC, Vrcibradic D, Almeida-Gomes M, Borges-Júnior VNT, Almeida-Santos P, Almeida-Santos M, Ariani CV, Guedes DM, Goyannes-Araújo P, Dorigo TA, Vansluys M, Rocha CFD (2009) Density and richness of leaf litter frogs (*Amphibia: Anura*) of an Atlantic Rainforest area in the Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro State, Brazil. *Zoologia*, **26**, 97-102.

Siqueira CC, Vrcibradic D, Almeida-Gomes M, Menezes VA, Borges-Júnior VNT, Hatano FH, Pontes JAL, Goyannes-Araújo P, Guedes DM, Vansluys M, Rocha CFD (2011) Species composition and density estimates of the anurofauna of a site within the northernmost large Atlantic Forest remnant (Parque Estadual do Desengano) in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Biota Neotropica*, **11**, 131-137.

Smith JB, Schneider SM, Oppenheimer M *et al.* (2009). Assessing dangerous climate change through an update of the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) 'reasons' for concern. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**, 4133–4137.

Snyder GK, Weathers WW (1975) Temperature adaptations in amphibians. *The American Naturalist*, **109**, 93–101.

Sodhi NS, Bickford D, Diesmos AC, Lee TM, Koh LP, Brook BW, Sekercioglu CH, Bradshaw CJA (2008) Measuring the Meltdown: Drivers of Global Amphibian Extinction and Decline. *PLoS ONE* **3**, 1–8.

Somero GN (2002) Thermal physiology and vertical zonation of intertidal animals: optima, limits, and costs of living. *Integr. Comp. Biol.* **42**:780–789

SOS Mata Atlântica, INPE, 2015. Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica Período 2013–2014. <https://www.sosma.org.br/projeto/atlas-da-mata-atlantica/dados-mais-recentes/> (accessed 01.12.15).

Spotila JR, O'Connor MP, Bakken GS (1992). Biophysics of heat and mass transfer. In: *Environmental Physiology of the Amphibians*. (eds Feder ME, Burggren WW). PP. 59–80. Chicago: University Chicago Press.

Stuart SN, Chanson JS, Cox NA, Young BE, Rodrigues ASL, Fischman DL, Waller RW (2004) Status and Trends of Amphibian Declines and Extinctions Worldwide. *Science*, **306**, 1783–1786.

Taylor KE, Stouffer RJ, Meehl GA (2012) An Overview of Cmp5 and the Experiment Design. *B. Am. Meteorol. Soc.* **93**, 485–498.

Tejedo M, Duarte H, Gutiérrez-Pesquera LM *et al.* (2012) El estudio de las tolerancias térmicas para el examen de hipótesis biogeográficas y de la vulnerabilidad de los organismos ante el calentamiento global. ejemplos en anfibios. *Boletín Asociación Herpetológica Española*, **32**, 2–27.

TEWKSBURY JJ, HUEY RB, DEUTSCH CA (2008) Putting the heat on tropical animals. *Science*, **320**, 1296-1297.

Thomas CD, Cameron A, Green RE *et al.* (2004) Extinction risk from climate change. *Nature*, **427**, 145–148.

Titon JB, Navas CA, Jim J, Gomes FR (2010) Water balance and locomotor performance in three species of neotropical toads that differ in geographical distribution. *Comp. Biochem. Physiol., Part A Mol. Integr. Physiol.* **156**:129-135.

Warnes GR, Bolker B, Bonebakker L *et al.* (2015) gplots: Various R Programming Tools for Plotting Data. R package version 2.17.0. <https://CRAN.R-project.org/package=gplots>.

White R. (1983) Effects of acute temperature change and acclimation temperature on neuromuscular function and lethality in cray fish. *Physiol Zool.* **56**:174 – 194.

Capítulo II

Ecological connectivity assessment for amphibians under climate change

(A ser submetido à revista *Biological Conservation*)

Ecological connectivity assessment for amphibians under climate change

Abstract. The ecological connectivity depends on key elements within the landscape, which can support ecological fluxes, species richness and long-term viability of a biological community. Landscape planning requires a clear objective and quantitative approaches to identify those key elements and reinforce the spatial coherence of protected-areas (PAs) design. In this context, we evaluated the relation between environmental factors and amphibian species richness in the PAs network of the Central Corridor of the Atlantic Forest, using an approach based on ecological connectivity and climate change models. Our results indicated that the predicted climate changes could directly reduce the dispersion of the community of amphibians that inhabits this region. Overall, our study contributes to the understanding of how the spatial patterns of dispersal of amphibians may be informative to connect forest remnants in the Atlantic Forest Hotspot.

Keywords: Biodiversity corridor, connectivity, dispersal ability, climate change, Atlantic Forest, anurans.

Introduction

The creation and maintenance of Protected Areas (PAs) is among the most effective methods for long-term biodiversity conservation plans (Rodrigues et al., 2004), working as a key-strategic tool in the development of environmental policies and efforts to sustain natural ecosystem processes (Le Saout et al., 2013; Laurence et al., 2014). The selection of PAs is often aimed to preserve species of different taxonomic groups, communities of high biological relevance or combinations of different abiotic conditions favorable to local ecosystems,

assuming that these sites will protect a wider range of biodiversity (Lawler and White, 2008). Given that habitat loss is the most important threat to species survival, the protected sites chosen by decision-makers determine what species and how many of these will be able to survive in nature (Jenkins et al., 2015).

Among all vertebrates, amphibians are the group with the largest number of species geographically excluded from global PAs, which corresponds to 24% of the living amphibian species (Nori et al., 2015). In an attempt to protect threatened amphibians, previous studies highlighted parts of the Atlantic Forest as high priority areas for conservation (e.g., Loyola et al., 2008; Campos et al., 2013; Lemes and Loyola, 2013; Dias et al., 2014). In addition, some taxonomic groups of amphibians from small areas within the Atlantic Forest were identified as potential surrogates of biodiversity (Campos et al., 2014). However, the survival of threatened amphibians in fragmented landscapes is dependent on the integrity and persistence of PAs, which can ensure the habitat quality for these species (Urbina-Cardona, 2008; Ochoa-Ochoa et al., 2009).

The economic growth policy in Brazil is widely based on the expansion of agricultural frontiers (Ribeiro et al., 2009), directly affecting the availability and the distribution of forest remnants in scattered private lands, which are gradually becoming crop and pasture production areas (Tabarelli et al., 2004). The forest isolation is a critical factor in the dynamic of structured biological communities, being particularly relevant in the habitat fragmentation context (Metzger, 2009), so that the use of ecological connectivity metrics are good indicators for measuring the isolation of PAs and their biological relations (Gurrutxaga et al., 2011). Assessing the ecological connectivity among PAs is becoming a relevant subject of growing international effort within the background of nature conservation policies (Bennett and Mulongoy, 2006; Worboys et al., 2010). The main reason for this increasing knowledge seems to be the importance given to avoiding the functional isolation of protected areas

(Carroll et al., 2004), halting the biodiversity loss (Bennett, 2004), and mitigating the effects of climate changes on the population structure of endemic species (Opdam and Wascher, 2004).

Some studies suggest that tropical species have narrow thermal tolerances and are already living close to their upper thermal limits (Deutsch et al., 2008; Tewksbury et al., 2008; Huey et al., 2009; Dillon et al., 2010; Duarte et al., 2012). If the heating forecast is confirmed (IPCC, 2014), species that are living close to their thermal limit will need to migrate in search of bioclimatic refuges to ensure the viability of their populations. Many studies revealed that climate change can alter species' dispersal patterns (Pearson and Dawson, 2004; Raxworthy et al., 2008), as well as significant species turnover (Peterson et al., 2002), but only few studies considered the potential impacts of climate change on fragmentation of populations (Duan et al., 2016). In this context, the connectivity among forest fragments is of paramount importance to ensure the flow of species among the possible bioclimatic refuges (Pearson and Dawson, 2005).

Therefore, we aimed to assess the relation between the environmental factors and amphibian species richness in the PAs network of the Central Corridor of Atlantic Forest, using ecological connectivity and climate change models to evaluate if this networks can really work as an effective biodiversity corridor.

Material and Methods

Study area

The Atlantic Forest represents one of the five most important biodiversity hotspots on Earth (Mittermeier et al., 2011). Originally, it covered around 1 500 000 km² of which only

about 12% (194 524 km²) still remains in Brazil, Paraguay and Argentina (Ribeiro et al., 2009), corresponding to about 100 000 km² of Brazilian forest remnants (Tabarelli et al., 2005). Despite having high rates of habitat loss (Teixeira et al., 2009), which is one of the main factors driving amphibians to extinction (Stuart et al., 2004; Becker et al., 2007), the Atlantic Forest is the leader biome in amphibian diversity in Brazil (Haddad et al., 2013), accounting for more than 50% of all Brazilian amphibian species (Haddad et al., 2013).

The Central Corridor of the Atlantic Forest comprises about 8% of the total biome area, corresponding to 7 913.42 km², among which 14.40% covers forest remnants (SOS Mata Atlântica/INPE, 2015). Here, we adopted the term Brazilian Atlantic Forest with regards on the vegetation remnant map provided by SOS Mata Atlântica/INPE (2015).

Protected Areas

We evaluated all the PAs covered by the Central Corridor of the Atlantic Forest, providing information on the political category and size of the area for each sampled site, as well as their associated amphibian species richness and their local environmental data. We assessed the spatial data on the PAs through the Brazil's Ministry of Environment database (<http://www.mma.gov.br/areas-protegidas/cadastro-nacional-de-ucs>; MMA 2015). We obtained the species data from geographical ranges maps of the IUCN Red List of Threatened Species database (IUCN, 2015). Regarding the environmental variables, we obtained the values of precipitation and temperature from the WorldClim database (<http://www.worldclim.org>; Hijmans et al., 2005). We also obtained annual evapotranspiration (AET), from the Geonetwork database (<http://www.fao.org/geonetwork/srv/>), and net primary productivity (NPP) from the Numeral Terra Dynamic Simulation Group (<http://www.ntsg.umt.edu/data>).

Climate model and species turnover

To develop the spatial range models, we used current and future climate data according to the CMIP5 (<http://cmip-pcmdi.llnl.gov>), from one coupled atmosphere-ocean global climate models (AOGCMs): MIROC5 simulated for 2050 in the scenario of moderate emissions (RCP 4.5, see Taylor et al., 2012). We based the model projections on seven climatic variables: annual mean temperature, temperature seasonality, mean temperature of the warmest and coldest quarters, annual precipitation and precipitation of the driest and wettest quarters. We obtained the climatic data through the ecoClimate database at a 0.5 latitude/longitude degrees of spatial resolution (<http://ecoclimate.org>; Lima-Ribeiro et al., 2015).

We assessed the potential future distribution of the forest cover according to the current vegetation remnant map of the Brazilian Atlantic Forest (SOS Mata Atlântica/INPE, 2015). This map served as a support to generate a set of 100 presence points randomly sampled, covering the forest remnant areas of the Central Corridor of Atlantic Forest. To develop the potential distribution map adopted in the climate change predictions, we used the maximum entropy method implemented in the software MaxEnt (Phillips et al., 2006). This method is a machine learning technique that estimates the distribution in probability nearest in the uniform distribution under the restriction that the expected values for each environmental variable are consistent with the empirical values observed in the occurrence points (Phillips et al., 2006).

For the validation of the models generated by MaxEnt, we used the values of the ROC curve (Receiver Operating Characteristics), which indicate the plotting values of the relative frequency of true positive records predicted by a given model against the values of the relative

frequency of pseudo absence records, generating the Area Under the Curve (AUC). For this purpose, one third of the occurrence records are set aside from modeling as test points (Phillips et al., 2006). Values of AUC range from 0.5 (i.e., random) for models with no predictive ability to 1.0 for models giving perfect predictions. According to the classification of Swets (1988), AUC values above 0.9 describe “very good”, 0.8 “good”, and 0.7 “useful” discrimination abilities. In addition, we calculated the species turnover between current and future species distributions according to the protocol proposed by Thuiller et al. (2005), which is given by the equation (1):

$$\textit{Species Turnover} = (L + G) / (SR + G)(1)$$

where “*G*” refers to the number of species gained, “*L*” the number of species lost and “*SR*” the contemporary species richness found in the forest remnants assessed. We used ArcGIS 10 software (ESRI, 2010) to build presence/absence matrices from the species distribution data by superimposing a grid system with cells of 0.1 latitude/longitude degrees, creating a network with 874 grid cells. We obtained the final maps of richness for present, future and turnover using the average of values projected by the MaxEnt model for each grid cell. To determine the species geographic distributions patterns, we employed the modeling strategy at the community level of “predict first, assemble later” (see Overton et al., 2002), where the ranges of individual species are modeled one at a time as a function of environmental predictors and then overlapped in order to obtain the species richness.

Forest connectivity assessment

We assessed the forest connectivity through the probability of connectivity (PC) index (Saura and Rubio, 2010), calculated for the patches of the Central Corridor of Atlantic Forest

under two environmental scenarios (i.e., current and future), using the software Conefor 2.6 (<http://www.conefor.org>; Saura and Torné, 2009). The PC is a graph-based habitat availability metric that quantifies functional connectivity (Saura and Rubio, 2010). It is defined as the probability that two points randomly placed within the landscape fall into habitat areas that are reachable from each other (interconnected) given a set of “n” habitat patches and the links (direct connections) among them (Saura and Pascual-Hortal, 2007). It is given by the equation (2):

$$PC = (\sum_{i=0}^n \sum_{j=0}^n a_i \times a_j \times p_{ij}^s) / A_L^2 = PCnum / A_L^2 \quad (2)$$

where a_i and a_j are the attributes of patches i and j (i.e., ID and area). A_L is the maximum landscape attribute, which corresponds to the total landscape area (i.e., area of the study region, comprising both habitat and non-habitat patches). The product probability of a path is the product of all the values of probability of direct dispersal (P_{ij}) for all the links in that path. Thus, P_{ij} is the maximum product probability of all the possible paths between patches i and j , including direct dispersal between the two patches.

We performed a prioritization ranking of the landscape elements (i.e., patches) by their contribution to overall habitat availability and connectivity from the percentage of the variation in PC (dPC_k), achieved by the removal of each patch from the overall landscape (see Saura and Pascual-Hortal, 2007; Saura and Rubio, 2010). The dPC_k is a relative measure of the increase in the PC value that resulted from the improvement in the strength of that link after the implementation of the defragmentation measures (Saura and Pascual-Hortal, 2007), which is given by the equation (3):

$$dPC_k = 100 \times (PC - PC_{remove.k}) / PC = 100 \times (dPC_k / PC) \quad (3)$$

where $PC_{\text{remove},k}$ is the index value after removal of the landscape element (i.e., after a certain habitat patch loss). This measure corresponds to the ‘link change’ analysis mode implemented in the software Conefor 2.6 (Saura and Torné, 2009). For all the connectivity analyses, we used a mean dispersal distance for amphibians according to the review conducted by Smith and Green (2005), where an estimative average distance of 400 m for amphibians in general was proposed. Whereas some amphibians can disperse over distances greater than 400 m (Smith and Green, 2005), we also assessed scenarios with a greater potential for dispersal, using distances of 600 and 800 m. To assess the ecological connectivity results for the future scenario, we considered only the areas with an assessed likelihood greater than 50%, considering the potential distribution areas with a minimum favorable condition for the forest persistence under the climate change predictions used.

Finally, we assessed the relation between the dPC results with forest remnants availability using a simple linear regression. In order to compare species richness patterns derived from environmental variables, we used principal components analyses – PCA (Legendre and Legendre, 2012), evaluating the rate at which each environmental variable can estimate the species richness as a whole. To complement this question, we did a multiple regression from the species richness with all environmental variables, showing if there is some direct relation with this variable group. We also made an analysis of variance (ANOVA) to test the relation between the species richness with the political categories of each PA assessed. In addition, we performed a permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA) to assess the response of the species richness by political category of each PA against the predicted environmental variables evaluated. For this, we used 1 000 permutations based on a Euclidean distance matrix, through the “adonis” function in the “vegan” R package (Oksanen et al., 2013). We performed all statistical analyses through the R software (R Development Core Team, 2009).

Results

In total, we found 110 PAs covered by the Central Corridor of the Atlantic Forest, comprising 6 607.98km² and corresponding to about 8% of the total corridor area (Fig. 1). Considering all the forest remnants assessed, we found 146 species among which only 20% of their total geographical range are current distributed within PAs.

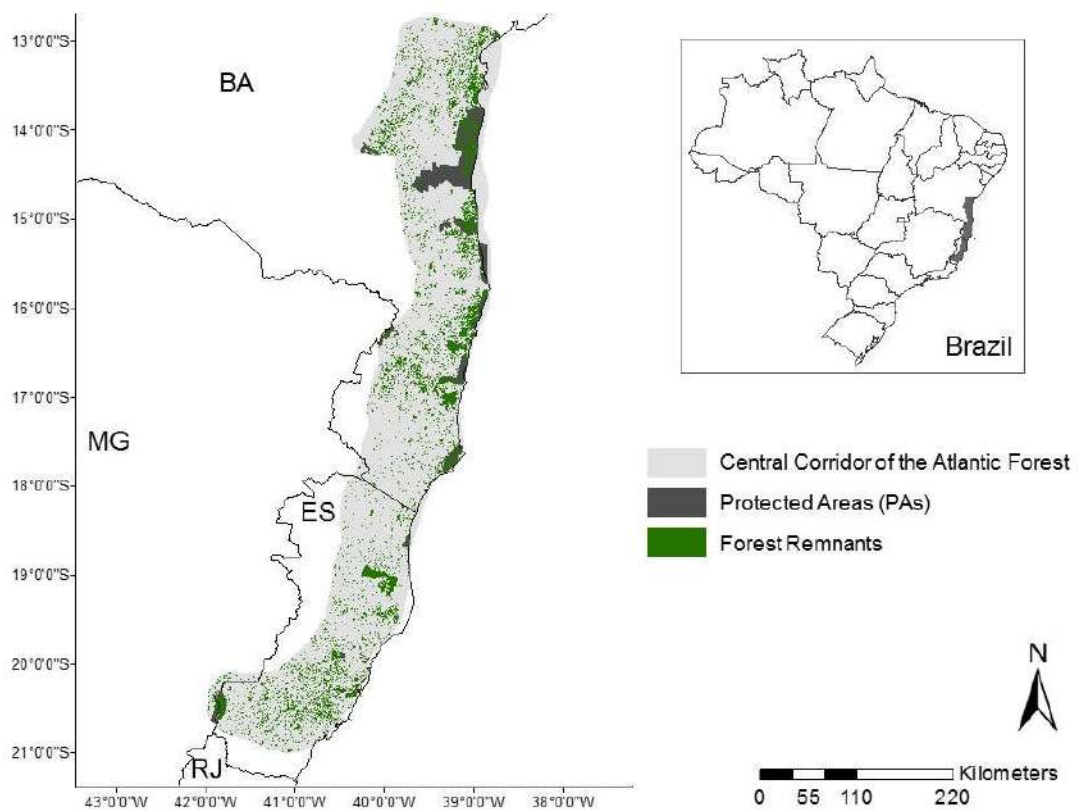


Fig. 1. Location of the Central Corridor of the Atlantic Forest, in eastern Brazil, representing their Protected Areas and Forest Remnants. BA: Bahia state; MG: Minas Gerais state; ES: Espírito Santo state; RJ: Rio de Janeiro state.

According to all the variables used to describe the local environmental patterns, we observed strong correlations among altitude, temperature and precipitation (Table A1,

Supplementary materials; available as an online appendix). To assess the PCA results, we chose their three first components, which were able to explain 75.77% of the explained variation by each environmental variable (Fig.A1, Table A2, Supplementary materials; available as an online appendix). From the PCA results, we did not find a significant explained variation by the environmental variables on the species richness ($P > 0.15$), with an explained variation of 14% for PC1, 13% for PC2, and 14% for PC3. However, by the multiple regression analysis, we found a significant correlation between species richness and environmental variables ($R^2 = 0.61$, $P < 0.05$).

The potential distribution of the forest remnants for the future scenario showed an average AUC value of 0.941, which indicated satisfactory performance of the model by the dataset provided (Fig. 2). The model predicts a reduction of 75% in the probability of occurrence of the Atlantic Forest remnants in the central region of the Corridor. The northern and southern edges of the Corridor, as well as areas of altitude showed the highest probability of forest occurrence. Consequently, since the results of the MaxEnt model, we observed that the amphibian species turnover was high, being more than 50% of the grid cells with turnover ratios greater than 0.7 (Fig. 2). On the other hand, changes in the species composition are predicted to be greater on the northern and the southern edge of the Corridor.

Considering a dispersal distance of 400m, our analyses of connectivity showed that the Central Corridor of the Atlantic Forest does not guarantee a good connectivity among the fragments, with an average dPC value of 8.43. When we assessed the dispersal distances of 600 and 800m, the average dPC was the same as observed for 400 m. However, our results showed some higher connectivity areas in the Northeastern region of the Central Corridor of the Atlantic Forest, mainly in the south of the Bahia state (Fig. 3). We found that 95% of the values pointed by the connectivity index were directed to the sustainable use areas (IUCN

categories III–VI), being only 5% pointed out to the integral protection areas (IUCN categories I–II).

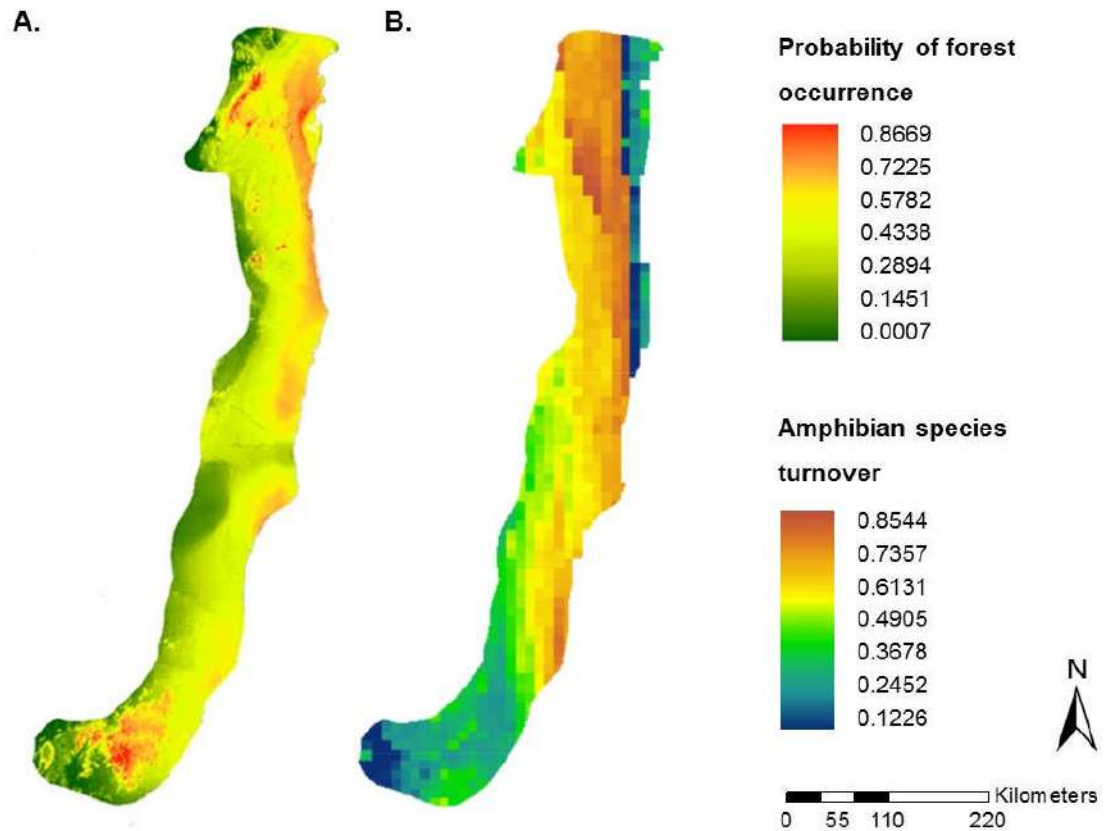


Fig. 2. Probability of forest occurrence according to the MaxEntmodel (A) and amphibian species turnover rate (B) under climate changes on the Central Corridor of the Atlantic Forest.

For the current scenario, we found only 10 PAs with high connectivity ($dPC > 60.0$), although 71 with very low values ($dPC < 1.0$; Table A3, Supplementary materials; available as an online appendix). However, this situation can still be aggravated considering the climate model results for the future, which showed a high probability of retraction of the forest remnants in the evaluated region, corresponding to 74% of connectivity loss that would represent approximately 4,889.90 km² of Atlantic Forest areas (Fig.3). According to these

future predictions, we estimated that 83 PAs would be without any ecological connectivity by the year 2050 ($dPC < 0.0$), while only six PAs would remain with dPC higher than 1.0. The PAs with the better expected connectivity under climate changes were represented by the RPPN Renascer, RPPN Refúgio do Guigó I and II, and RPPN Boa União, in the Bahia state, and RPPN Mata da Serra, APA Serra da Vargem Alegre, and Parque Estadual do Forno Grande, in the Espírito Santo state (Table A3, Supplementary materials; available as an online appendix).

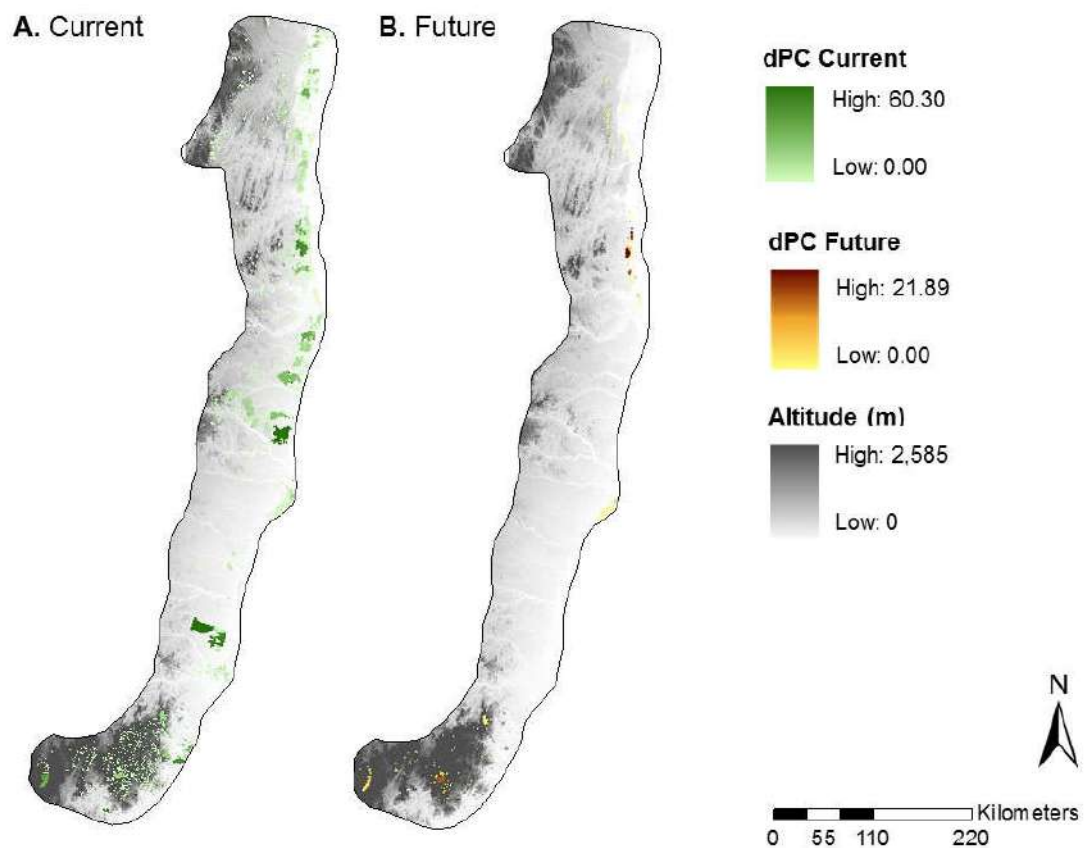


Fig. 3. Probability of connectivity (dPC) for the current (A) and the future (B) scenarios concerning amphibians in the Central Corridor of the Atlantic Forest, with its altitudinal representation.

We did not find correlation through the linear regression between species richness and connectivity ($R^2 = 0.00$, $P = 0.36$). The only significant correlation that we found with the

connectivity values was in relation with the forest cover ($R^2 = 0.20$, $P = 0.01$). According to the ANOVA results, we also did not find significant relation between species richness and the political categories of each PA assessed. However, when we compared species richness and PA categories with all the environmental variables together – using the PERMANOVA, we found direct relations with the variables precipitation, temperature, evapotranspiration and forest cover (Table 1), being precipitation the factor better associated with the amphibian species richness in the Central Corridor of the Atlantic Forest.

Table 1. Results from PERMANOVA on the species richness and PA categories by all the environmental variables assessed in the Central Corridor of the Brazilian Atlantic.

| Environmental Variables | Df | <i>F</i> model | <i>R</i> ² | <i>P</i> value |
|-------------------------|-----|-------------------|-----------------------|-------------------|
| Altitude | 1 | -21.27 | -0.06 | 0.98 |
| Evapotranspiration | 1 | 24.16 | 0.07 | 0.02* |
| Npp | 1 | -6.24 | -0.02 | 0.85 |
| Precipitation | 1 | 130.71 | 0.42 | 0.00* |
| Temperature | 1 | 43.70 | 0.14 | 0.00* |
| Area | 1 | 6.56 | 0.02 | 0.14 |
| Forest cover | 1 | 27.88 | 0.09 | 0.02* |
| Residuals | 102 | – | 0.33 | – |
| Total | 109 | – | 1.00 | – |

*Significant values

Discussion

Our findings showed that the proportion of forest fragments with good connectivity rate is very low along the central corridor of the Atlantic Forest, which consequently reduces the flow of species among the fragments and significantly restricts the functional role of this ecological corridor. We revealed that the fragments located in the coastal part of southern

Bahia deserve special attention in conservation plans because they hold the highest proportion of ecological connectivity among those evaluated. This special concern for southern Bahia is further supported when considering the presence of a matrix composed by shaded cocoa plantations, as pointed out by Pardini et al. (2009). This agroforestry system has allowed the conservation of large amounts of native plant species, besides hosting typical fauna species of mature forest (Pardini et al., 2009). Because of their forest-like structure, shaded cocoa plantations of the Forest remnants from southern Bahia play a fundamental role in maintaining connectivity between forest fragments (Sperber et al., 2004; Delabie et al., 2007; Faria and Baumgarten, 2007). In addition, our results indicated this region with high probability of occurrence in a climate change scenario, which highlight the reason for future action plans aimed at conserving local biodiversity in these remnant areas.

The selection of critical habitats for amphibian conservation under climate change is pivotal for taking effective management decisions (Guisan et al., 2013). Areas of high species turnover rate can be specific places with the largest shifts in the populations with potential distribution in this zone (Duan et al., 2016). Many studies conducted turnover assessments using turnover ratios (Erasmus et al., 2002; Peterson et al., 2002), however our results revealed that the areas with high turnover rates were not exactly the same as areas with high occurrence probability of forest remnants under climate change. Thereby, areas with a high turnover rate can be reflecting areas with a low species richness under the current climate (Duan et al., 2016), which in the case of the Atlantic Forest may be represented by the higher altitude areas. Moreover, high turnover rates in the altitude areas can strengthen the mountains as potential climatic refuges (Randin et al., 2009; Araujo et al., 2011).

In tropical regions, the temperature variation in a latitudinal gradient is little significant (Colwell et al., 2008), so that species affected by warming are more likely to search for refuges in mountainous areas than by latitudinal migration (Bush, 2002; Bush and

Hooghiemstra, 2005). Therefore, the establishment of conservation efforts along the areas with better connectivity values can ensure the species access to the mountainous regions, which probably will keep lower temperatures in the future. Thus, we recommend that the design of new conservation plans in the Central Corridor of the Atlantic Forest should attempt to re-establish ecological connectivity between the remaining fragments and the higher altitude areas. This may represent an alternative mechanism to mitigate some potential impacts related to global warming in the Atlantic Forest Hotspot. Corroborating our findings, some other studies in the Atlantic Forest also have been warning about the need to invest in PAs near altitude areas (Lemes and Loyola, 2013; Loyola et al., 2014), mainly in the areas of Serra do Mar and south of Bahia (Carnaval et al., 2009), which retain high humidity provided by well-preserved forest cover.

Our predictions on the environmental variables for amphibian species richness in the Atlantic Forest are dependent on their limited dispersal abilities. Therefore, dispersal capability might severely limit the ability of species to track suitable climatic conditions geographically (Massot et al., 2008; Early and Sax, 2011). The use of various environmental variables has been demonstrated as an efficient strategy to reach outcomes closer to reality, being one of the keys to understanding how communities can respond to climatic factors (Araújo and New, 2007; Marmion et al., 2009). Many biotic and abiotic factors influence the richness and the distribution of species in an environment (Diamond, 1975). Amphibians are particularly sensitive to environmental changes and depending on the species, the dispersal ability can be associated with their evolutionary specialization processes or simply to their diminutive body sizes (Early and Sax, 2011; Lourenço-de-Moraes et al., 2014). Most amphibian species that occur in the Atlantic Forest are a little under 30 mm (Haddad et al., 2013), and even small species like *Dendropsophus nanus*, and *D. minutus* have great dispersal ability due to their specialty to live in open areas. Therefore, amphibian species with high

abundance in open areas or high phenotypical plasticity, such as *Scinax ruber* might expand their geographical ranges under future scenarios (Dahanukar, 2012). Some other opportunistic species adapted to warmer and drier environments also can increase their distributions under climate changes (e.g., *Rhinella crucifer*, *Dendropsophus branneri*, *Leptodactylus troglodytes*, and *Odontophrynus americanus*). Furthermore, species with a high variety of antipredator mechanisms may be more likely to avoid a wider range of predators (Lourenço-de-Moraes et al., 2016), which allows them to be more successful in their dispersal.

Our findings indicate that the potential impacts of climatic changes should occur in almost the entire Central Corridor of the Atlantic Forest, which could affect the ecological connectivity of the whole biome. However, areas with lowest turnover rates coincide with the areas with the greatest probability of connectivity for the future scenario. Therefore, low turnover rates in the altitudes areas can support the Atlantic Forest mountains as an effective climatic refuge (Carnaval et al., 2009). Thereby, we suggest that the PAs with the better expected connectivity under climate changes need a critical attention in future conservation plans (e.g., RPPN Renascer, RPPN Refúgio do Guigó I and II, and RPPN Boa União, in the Bahia state, and RPPN Mata da Serra, APA Serra da Vargem Alegre, and Parque Estadual do Forno Grande, in the Espírito Santo state). In this context, these mitigations can be useful to avoid potential extinction processes expected for the amphibians inhabiting the Central Corridor of Atlantic Forest PAs.

Amphibian species from Atlantic Forest PAs are more threatened with extinction than in other Brazilian protected networks (Campos et al., 2016). This happens mainly because the southeastern region of Brazil is the economic core of the country, with highly fragmented forest remnants (Ribeiro et al., 2009), with a high human population density, and the presence of mining and logging activities (Lemes et al., 2014). Our approach does not specifically estimate a quantitative species extinction risk, but shows evidence of a potential regional

extinction within limited dispersal models. Therefore, our results indicate that many PAs will become less effective in future scenarios, which can dramatically affect the species protection as a whole.

In summary, our study contributes to the understanding of how the spatial dispersal patterns of amphibians may be informative to connect forest remnants. We hope our results could act as a step in a complex conservation planning process needed to safeguard Atlantic Forest amphibians. However, with the establishment of ecological corridors, many lowland species may experience restrictions on their ability to colonize high-altitude areas. Thus, future studies could assess the ability of amphibian species in moving from lowland areas to hill forests, testing the effectiveness of migration as well as checking availability or creation of habitats as breeding strategies, setting innovative spatial priorities for the conservation amphibians in the Atlantic Forest.

References

- Araújo, M.B., New, M., 2007. Ensemble forecasting of species distributions. *Trends Ecol. Evol.* 22, 42–47. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2006.09.010>.
- Araújo, M.B., Alagador, D., Cabeza, M., Nogués-Bravo, D., Thuiller, W., 2011. Climate change threatens European conservation areas. *Ecol. Lett.* 14, 484–492. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01610.x>.
- Becker, C.G., Fonseca, C.R., Haddad, C.F.B., Batista, R.F., Prado, P.I., 2007. Habitat split and the global decline of amphibians. *Science* 318, 1775–1777. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1149374>.

- Bennett, G., Mulongoy, K.J., 2006. Review of Experience with Ecological Networks, Corridors and Buffer Zones, Secretariat of the Convention on Biological Diversity, Montreal.
- Bush, M.B., 2002. Distributional change and conservation on the Andean flank: a palaeoecological perspective. *Global Ecol. Biogeogr.* 11, 463–473. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1466-822X.2002.00305.x>.
- Bush, M.B., Hooghiemstra, H., 2005. Tropical biota responses to climate change, in: Lovejoy, T.E., Hannah, L. (Eds.), *Climate change and biodiversity*. Yale University Press, New Haven, pp. 125–137.
- Campos, F.S., Brito, D., Solé, M., 2013. Threatened Amphibians and Their Conservation Status within the Protected Area Network in Northeastern Brazil. *J. Herpetol.* 47, 277–285. <http://dx.doi.org/10.1670/11-158>.
- Campos, F.S., Trindade-Filho, J., Brito, D., Llorente, G.A., Solé, M., 2014. The efficiency of indicator groups for the conservation of amphibians in the Brazilian Atlantic Forest. *Ecol. Evol.* 4, 2505–2514. <http://dx.doi.org/10.1002/ece3.1073>.
- Campos, F.S., Llorente, G.A., Rincón, L., Lourenço-de-Moraes, R., Solé, M., 2016. Protected areas network and conservation efforts concerning threatened amphibians in the Brazilian Atlantic Forest. *Web Ecol.* 16, 9–12. <http://dx.doi.org/10.5194/we-16-9-2016>.
- Carnaval, A.C., Hickerson, M.J., Haddad, C.F., Rodrigues, M.T., Moritz, C., 2009. Stability Predicts Genetic Diversity in the Brazilian Atlantic Forest Hotspot. *Science* 323, 785–789. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1166955>.

- Carroll, C., Noss, R.F., Paquet, P.C., Schumaker, N.H., 2004. Extinction debt of protected areas in developing landscapes. *Conserv. Biol.* 18, 1110–1120. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1523-1739.2004.00083.x>.
- Colwell, R.K., Brehm, G., Cardelús, C.L., Gilman, A.C., Longino, J.T., 2008. Global warming, elevational range shifts, and lowland biotic attrition in the wet tropics. *Science* 322, 258–261. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1162547>.
- Dahanukar, N., 2012. *Badis ruber*. The IUCN Red List of Threatened Species 2012: e.T168341A1185879. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20121.RLTS.T168341A1185879.en> (accessed 14.10.16).
- Delabie, J.H.C., Jahyny, B., Nascimento, I.C., Mariano, C.S.F., Sébastien, L., Campiolo, S., Philpott, S.M., Leponce, M., 2007. Contribution of cocoa plantations to the conservation of native ants (Insecta: Hymenoptera: Formicidae) with special emphasis on the Atlantic Forest fauna of southern Bahia, Brazil. *Biodivers. Conserv.* 16, 2359–2384. <http://dx.doi.org/10.1007/s10531-007-9190-6>.
- Deutsch, C.A., Tewksbury, J.J., Huey, R.B., Sheldon, K.S., Ghalambor, C.K., Haak, D.C., Martin, P.R., 2008. Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105, 6668–6672. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0709472105>.
- Diamond, J.M., 1975. Assembly of species communities, in: Cody, M.L., Diamond, J. (Eds.), *Ecology and evolution of communities*. Harvard University Press, Cambridge, pp. 342–444.

- Dillon, M.E., Wang, G., Huey, R.B., 2010. Global metabolic impacts of recent climate warming. *Nature* 467, 704–706. <http://dx.doi.org/10.1038/nature09407>.
- Dias, I.R., Medeiros, T.T., Vila-Nova, M.M., Solé, M., 2014. Amphibians of Serra Bonita, southern Bahia: a new hotspot within Brazil's Atlantic Forest hotspot. *Zookeys* 449, 105–130. <http://dx.doi.org/10.3897/zookeys.449.7494>.
- Duan, R., Kong, X., Huang, M., Varela, S., Ji, X., 2016. The potential effects of climate change on amphibian distribution, range fragmentation and turnover in China. *PeerJ* 4, e2185. <https://dx.doi.org/10.7287/peerj.preprints.1681v1>.
- Duarte, H., Tejedo, M., Katzenberger, M., Marangoni, F., Baldo, D., Beltran, J.F., Martı, D.A., Richter-Boix, A., Gonzalez-Voyer, A., 2012. Can amphibians take the heat? Vulnerability to climate warming in subtropical and temperate larval amphibian communities. *Glob. Chang. Biol.* 18, 412–421. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2486.2011.02518.x>.
- Early, R., Sax, D.F., 2011. Analysis of climate paths reveals potential limitations on species range shifts. *Ecol. Lett.* 14, 1125–1133. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01681.x>.
- Erasmus, B.F.N., Van Jaarsveld, A.S., Chown, S.L., Kshatriya, M., Wessels, K.J., 2002. Vulnerability of South African animal taxa to climate change. *Glob. Chang. Biol.* 8, 679–693. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2486.2002.00502.x>.
- ESRI, 2010. ArcGIS desktop: release 10, Environmental Systems Research Institute, Redlands.

- Faria, D., Baumgarten, J. 2007. Shade cacao plantations (*Theobroma cacao*) and bat conservation in southern Bahia, Brazil. *Biodivers. Conserv.* 16, 291–312.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10531-005-8346-5>.
- Guisan, A., Tingley, R., Baumgartner, J.B., Naujokaitis-Lewis, I., Sutcliffe, P.R., Tulloch, A.I.T., Regan, T.J., Brotons, L., McDonald-Madden, E., Mantyka-Pringle, C., Martin, T.G., Rhodes, J.R., Maggini, R., Setterfield, S.A., Elith, J., Schwartz, M.W., Wintle, B.A., Broennimann, O., Austin, M., Ferrier, S., Kearney, M.R., Possingham, H.P., Buckley, Y.M., 2013. Predicting species distributions for conservation decisions. *Ecol. Lett.* 16, 1424–1435. <http://dx.doi.org/10.1111/ele.12189>.
- Gurrutxaga, M., Rubio, L., Saura, S., 2011. Key connectors in protected forest area networks and the impact of highways: A transnational case study from the Cantabrian Range to the Western Alps (SW Europe). *Landscape Urban Plan.* 101, 310–320. <http://dx.doi.org/10.1016/j.landurbplan.2011.02.036>.
- Haddad, C.F.B., Toledo, L.F., Prado, C.P.A., Loebmann, D., Gasparini, J.L., Sazima, I., 2013. Guia dos anfíbios da Mata Atlântica – diversidade e biologia, Anolis Books, São Paulo.
- Hijmans, R.J., Cameron, S.E., Parra, J.L., Jones, P.G., Jarvis, A., 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *Int. J. Climatol.* 25, 1965–1978. <http://dx.doi.org/10.1002/joc.1276>.
- Huey, R.B., Deutsch, C.A., Tewksbury, J.J., Vitt, L.J., Hertz, P.E., Alvarez, P.H., Garland, T., 2009. Why tropical forest lizards are vulnerable to climate warming. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B. Biol. Sci.* 276, 1939–1948. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2008.1957>.
- IUCN, 2015. The IUCN Red List of threatened species, Version 2015.1.
<http://www.iucnredlist.org> (accessed 19.11.15).

- IPCC, 2014. Climate change 2014: impacts, adaptation, and vulnerability, Contribution of Working Group II to the 5th Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Cambridge University Press, Cambridge.
- Jenkins, C.N., Van Houtan, K.S., Pimm, S.L., Sexton, J.O., 2015. US protected lands mismatch biodiversity priorities. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 112, 5081–5086. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1418034112>.
- Lawler, J.J., White, D. 2008. Assessing the mechanisms behind successful surrogates for biodiversity in conservation planning. *Anim. Conserv.* 11, 270–280. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-1795.2008.00176.x>.
- Laurance, W.F., Sayer, J., Cassman, K.G., 2014. Agricultural expansion and its impacts on tropical nature. *Trends Ecol. Evol.* 29, 107–116. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2013.12.001>.
- Le Saout, S., Hoffmann, M., Shi, Y., Hughes, A., Bernard, C., Brooks, T.M., Bertzky, B., Butchart, S.H.M., Stuart, S.N., Badman, T., Rodrigues, A.S.L., 2013. Protected areas and effective biodiversity conservation. *Science* 342, 803–805. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1239268>.
- Legendre, P., Legendre, L., 2012. *Numerical Ecology*, 3rd ed. Elsevier, Amsterdam.
- Lemes, P., Loyola, R.D., 2013. Accommodating species climate-forced dispersal and uncertainties in spatial conservation planning. *PLoS ONE* 8, e54323. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0054323>.
- Lemes, P., Melo, A.S., Loyola, R.D., 2014. Climate change threatens Protected Areas of the Atlantic Forest. *Biodivers. Conserv.* 23, 357–368. <http://dx.doi.org/10.1007/s10531-013-0605-2>.

- Lima-Ribeiro, M.S., Varela, S., González-Hernández, J., Oliveira, G., Diniz-Filho, J.A.F., Terribile, L.C., 2015. Ecoclimate: a Database of Climate Data From Multiple Models for Past, Present, and Future for Macroecologists and Biogeographers. *Biodivers. Informatics* 10, 1–21. <https://dx.doi.org/10.17161/bi.v10i0.4955>.
- Lourenço-de-Moraes, R., Ferreira, R.B., Fouquet, A., Bastos, R.P., 2014. A new diminutive frog species of *Adelophryne* (Amphibia: Anura: Eleutherodactylidae) from the Atlantic Forest, southeastern Brazil. *Zootaxa* 3846, 348–360. <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.3846.3.2>.
- Lourenço-de-Moraes, R., Ferreira, R.B., Mira-Mendes, C.V., Zocca, C.Z., Medeiros, T., Ruas, D.S., Rebouças, R., Toledo, L.F., Brodie Jr., E.D., Solé, M., 2016. Escalated antipredator mechanisms of two neotropical marsupial treefrogs. *Herpetol.J.* 26, 237–244.
- Loyola, R.D., Becker, C.G., Kubota, U., Haddad, C.F.B., Fonseca, C.R., Lewinsohn, T.M., 2008. Hung Out to Dry: Choice of Priority Ecoregions for Conserving Threatened Neotropical Anurans Depends on Life-History Traits, *PLoS ONE* 3, e2120. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0002120>.
- Loyola, R.D., Lemes, P., Brum, F.T., Provete, D.B., Duarte, L.D.S., 2014. Clade-specific consequences of climate change to amphibians in Atlantic Forest protected areas. *Ecography* 37, 65–72. <http://dx.doi.org/10.1111/j.16000587.2013.00396.x>.
- Marmion, M., Parvianien, M., Luoto, M., Heikkinen, R.K., Thuiller, W., 2009. Evaluation of consensus methods in predictive species distribution modelling. *Divers. Distrib.* 15, 59–69. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-4642.2008.00491.x>.

- Massot, M., Clobert, J., Ferrière, R., 2008. Climate warming, dispersal inhibition and extinction risk. *Glob. Change Biol.* 14, 461–469. <http://dx.doi.org/10.1111/j.13652486.2007.01514.x>.
- Metzger, J.P., 2009. Conservation issues in the Brazilian Atlantic forest. *Biol. Conserv.* 142, 1138–1140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2008.10.012>.
- MMA, 2015. Ministério do Meio Ambiente, Cadastro Nacional de Unidades de Conservação. <http://www.mma.gov.br/areas-protegidas/cadastro-nacional-de-ucs> (accessed 06.02.16).
- Mittermeier, R.A., Turner, W.R., Larsen, F.W., Brooks, T.M., Gascon, C., 2011. Global biodiversity conservation: the critical role of hotspots, in: Zachos, F.E., Habel, J.C. (Eds.), *Biodiversity hotspots: distribution and protection of conservation priority areas*. Springer, Heidelberg, pp. 2–22.
- Nori, J., Lemes, P., Urbina-Cardona, N., Baldo, D., Lescano, J., Loyola, R., 2015. Amphibian conservation, land-use changes and protected areas: A global overview. *Biol. Conserv.* 191, 367–374. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2015.07.028>.
- Ochoa-Ochoa, L.M., Urbina-Cardona, J.N., Vázquez, L.B., Flores-Villela, O., Bezaury-Creel, J., 2009. The effects of governmental protected areas and social initiatives for land protection on the conservation of Mexican amphibians. *PLoS ONE* 4, e6878. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0006878>.
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P.R., O'Hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H., Wagner, H., 2013. *Vegan: Community Ecology Package*, R package version 2.0-6. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan> (accessed 22.05.16).

- Opdam, P., Wascher, D., 2004. Climate change meets habitat fragmentation: linking landscape and biogeographical scale levels in research and conservation. *Biol. Conserv.* 117, 285–297. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2003.12.008>.
- Overton, J.M., Stephens, R.T.T., Leathwick, J.R., Lehmann, A., 2002. Information pyramids for informed biodiversity conservation. *Biodivers. Conserv.* 11, 2093–2116. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1021386426790>.
- Pardini, R., Faria, D., Accacio, G.M., Laps, R.R., Mariano-Neto, E., Paciencia, M.L.B., Dixo, M., Baumgarten, J., 2009. The challenge of maintaining Atlantic forest biodiversity: A multi-taxa conservation assessment of specialist and generalist species in an agro-forestry mosaic in southern Bahia. *Biol. Conserv.* 142, 1178–1190. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2009.02.010>.
- Pearson, R.G., Dawson, T.P., 2004. Bioclimate envelope models: what they detect and what they hide – response to Hampe (2004). *Global Ecol. Biogeogr.* 13, 471–473. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1466-822X.2004.00112.x>.
- Pearson, R.G., Dawson, T.P., 2005. Long-distance plant dispersal and habitat fragmentation: identifying conservation targets for spatial landscape planning under climate change. *Biol. Conserv.* 123, 389–401. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2004.12.006>.
- Peterson, A.T., Ortega-Huerta, M.A., Bartley, J., Sánchez-Cordero, V., Soberón, J., Buddemeier, R.H., Stockwell, D.R.B., 2002. Future projections for Mexican faunas under global climate change scenarios. *Nature* 416, 626–629. <http://dx.doi.org/10.1038/416626a>.

- Phillips, S.J., Anderson, R.P., Schapire, R.E., 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecol. Modell.* 190, 231–259. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2005.03.026>.
- R Development Core Team, R., 2009. A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Randin, C.F., Engel, R.E., Normand, S., Zappa, M., Zimmermann, N.E., Pearman, P.B., Vittoz, P., Thuiller, W., Guisan, A., 2009. Climate change and plant distribution: local models predict high-elevation persistence. *Glob. Change Biol.* 15, 1557–1569. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01766.x>.
- Raxworthy, C.J., Pearson, R.G., Rabibisoa, N., Rakotondrazafy, A.M., Ramanamanjato J.B., Raselimanana, A.P., Wu, S., Nussbaum, R.A., Stone, D.A., 2008. Extinction vulnerability of tropical montane endemism from warming and upslope displacement: a preliminary appraisal for the highest massif in Madagascar. *Glob. Change Biol.* 14, 1–18. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01596.x>.
- Ribeiro, M.C., Metzger, J.P., Martensen, A.C., Ponzoni, F.J., Hirota, M.M., 2009. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biol. Conserv.* 142, 1141–1153. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2009.02.021>.
- Rodrigues, A.S.L., Andelman, S.L., Bakarr, M.I., Boitani, L., Brooks, T.M., Cowling, R.M., Fishpool, L.D.C., da Fonseca, G.A.B., Gaston, K.J., Hoffmann, M., Long, J.S., Marquet, P.A., Pilgrim, J.D., Pressey, R.L., Schipper, J., Sechrest, W., Stuart, S.N., Underhill, L.G., Waller, R.W., Watts, M.E.J., Yan, X. 2004. Effectiveness of the global protected area

network in representing species diversity. *Nature* 428, 640–643.

<http://dx.doi.org/10.1038/nature02422>.

Saura, S., Pascual-Hortal, L., 2007. A new habitat availability index to integrate connectivity in landscape conservation planning: comparison with existing indices and application to a case study. *Landscape Urban Plan.* 83, 91–103. <http://dx.doi.org/10.1016/j.landurbplan.2007.03.005>.

Saura, S., Torné, J., 2009. Conefor Sensinode 2.2: a software package for quantifying the importance of habitat patches for landscape connectivity. *Environ. Modell. Softw.* 24, 135–139. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envsoft.2008.05.005>.

Saura, S., Rubio, L., 2010. A common currency for the different ways in which patches and links can contribute to habitat availability and connectivity in the landscape. *Ecography* 33, 523–537. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0587.2009.05760.x>.

Smith, M.A., Green, D.M., 2005. Dispersal and the metapopulation paradigm in amphibian ecology and conservation: are all amphibian populations metapopulations? *Ecography* 28, 110–128. <http://dx.doi.org/10.1111/j.0906-7590.2005.04042.x>.

SOS Mata Atlântica, INPE, 2015. Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica Período 2013–2014. <https://www.sosma.org.br/projeto/atlas-da-mata-atlantica/dados-mais-recentes/> (accessed 01.12.15).

Sperber, C.F., Nakayama, K., Valverde, M.J., Neves, D.S., 2004. Tree species richness and density affect parasitoid diversity in cacao agroforestry. *Basic Appl. Ecol.* 5, 241–251. <http://dx.doi.org/10.1016/j.baae.2004.04.001>.

- Stuart, S., Chanson, J.S., Cox, N.A., Young, B.E., Rodrigues, A.S.L., Fischman, D.L., Waller, R.W., 2004. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science* 306, 1783–1786. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1103538>.
- Swets, K., 1988. Measuring the accuracy of diagnostic systems. *Science* 240, 1285–1293. <http://dx.doi.org/10.1126/science.3287615>.
- Tabarelli, M., Silva, J.M.C., Gascon, C., 2004. Forest fragmentation, synergisms and the impoverishment of Neotropical forests. *Biodivers. Conserv.* 13, 1419–1425. <http://dx.doi.org/10.1023/B:BIOC.0000019398.36045.1b>.
- Tabarelli, M., Pinto, L.P., Silva, J.M.C., Hirota, M., Bede, L., 2005. Challenges and Opportunities for Biodiversity Conservation in the Brazilian Atlantic Forest. *Conserv. Biol.* 19, 695–700. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1523-1739.2005.00694.x>.
- Taylor, K.E., Stouffer, R.J., Meehl, G.A., 2012. An Overview of Cmp5 and the Experiment Design. *B. Am. Meteorol. Soc.* 93, 485–498. <http://dx.doi.org/10.1175/BAMS-D-11-00094.1>
- Sanabria et al., 2013 Teixeira, A.M.G., Soares, B.S., Freitas, S.R., Metzger, J.P., 2009. Modelling landscape dynamics in Atlantic Rainforest region: Implications for conservation. *Forest Ecol. Manag.* 257, 1219–1230. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2008.10.011>.
- Tewksbury, J.J., Huey, R.B., Deutsch, C.A., 2008. Putting the heat on tropical animals. *Science* 320, 1296–1297. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1159328>.
- Thuiller, W., Lavorel, S., Araújo, M.B., Sykes, M.T., Prentice, I.C., 2005. Climate change threats to plant diversity in Europe. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 8245–8250. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0409902102>.

Urbina-Cardona, J.N., 2008. Conservation of Neotropical herpetofauna: research trends and challenges. *Trop. Conserv. Sci.* 1, 359–375.

Worboys, G.L., Francis, W.L., Lockwood, M., 2010. *Connectivity Conservation Management. A Global Guide.* Earthscan, London.

Appendix A. Supplementary materials

Table A1. Correlation matrix among all environmental variables assessed in the Central Corridor of the Brazilian Atlantic.

| | Altitude | Evapotranspiration | Npp | Precipitation | Temperature | Area |
|--------------------|----------|--------------------|---------|---------------|-------------|-------|
| Evapotranspiration | - | | | | | |
| n | 0.490* | | | | | |
| Npp | 0.087 | 0.284* | | | | |
| Precipitation | 0.692* | -0.539* | 0.172 | | | |
| Temperature | 0.835* | -0.390* | 0.160 | 0.679* | | |
| Area | -0.083 | 0.035 | -0.320* | -0.048 | -0.086 | |
| Forest cover | -0.342* | 0.227* | -0.157 | -0.243* | -0.214* | 0.036 |

*Significant values ($P < 0.05$)

Table A2. Explained variance of each PCA component regarding to the environmental variables assessed in the Central Corridor of the Brazilian Atlantic.

| Environmental Variables | PC1 (P) | PC2 (P) | PC3 (P) |
|-------------------------|-------------|-------------|-------------|
| Altitude | 0.91* | -0.02 | 0.02 |
| Evapotranspiration | -0.66* | 0.46* | -0.15 |
| Npp | 0.15 | 0.87* | -0.13 |
| Precipitation | 0.86* | -0.01 | 0.09 |
| Temperature | 0.87* | 0.05 | 0.13 |
| Area | -0.14 | -0.65* | -0.45* |
| Forest cover | -0.44* | -0.14 | 0.79* |

*Significant values ($P < 0.05$)

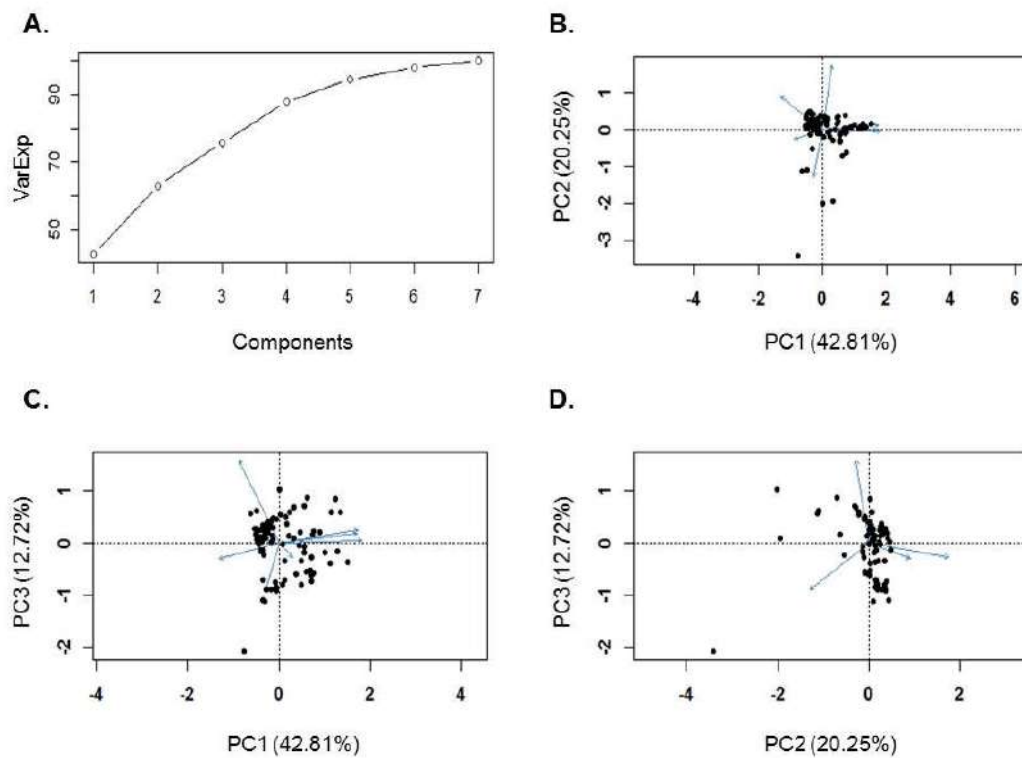


Figure A1. PCA ordination on to the environmental variables assessed in the Central Corridor of the Atlantic Forest. A. Cumulative explained variation (VarExp) by the PCA components; B. Explained variation by the PC1 and PC2 components; C. Explained variation by the PC1 and PC3 components; D. Explained variation by the PC2 and PC3 components.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente, as espécies avaliadas não estão vulneráveis as temperaturas por estas experimentadas, pois estratégias comportamentais (e.g. busca por refúgios, período de atividade) permitem que estas suportem os dias mais quentes sem estarem expostas a temperaturas próximas as suas CT_{max} . Contudo, diante da previsão do aumento da temperatura global para este século, a condição de vulnerabilidade torna-se iminente, uma vez que, mesmo com a temperatura do ambiente não alcançando a CT_{max} das espécies, quando abrigadas, a margem de segurança térmica ficará muito estreita, expondo as espécies a temperaturas muito próximas de suas CT_{max} por períodos mais longos. Os efeitos de tal exposição ainda são desconhecidos, entretanto acreditamos que poderá causar um estresse que comprometerá funções biológicas importantes ou até mesmo a morte.

Além das complicações fisiológicas que estas espécies podem enfrentar, problemas relacionados com a fragmentação do habitat podem potencializar ainda mais os efeitos das mudanças climáticas. As espécies avaliadas, com exceção de *Haddadus binotatus*, apresentam distribuição dentro do Corredor Central da Mata Atlântica. Este Corredor encontra-se muito fragmentado, com poucos remanescentes florestais com bons índices de conectividade. Com a projeção de retração do bioma na área do Corredor em decorrência das mudanças climáticas poderá haver um agravamento da vulnerabilidade das espécies, devido a uma redução na área de distribuição das espécies, bem como acentuar a desconectividade entre os fragmentos. Isso limitará o fluxo genético entre as populações o que conseqüentemente causará um efeito negativo na adaptação das espécies as novas condições ambientais, bem como inviabilizará possíveis fluxos de espécies em busca de refúgios térmicos em áreas de altitude.

Para melhor predizer os impactos sobre as populações, estrutura das comunidades e dinâmica dos ecossistemas, é necessário testar muitas espécies, avaliar interações

interespecíficas, plasticidade dos limites térmicos, variabilidade intraespecífica, potencial de aclimação, resistência das espécies a temperaturas próximas às suas CT_{max} , efeitos sub-letais e indiretos do aumento da temperatura que podem gerar consequências importantes para os indivíduos, bem como fatores relacionados ao potencial de dispersão das espécies. Contudo, a adaptação evolutiva poderá ser a única forma de espécies vulneráveis persistirem caso não sejam capazes de dispersar para locais mais favoráveis.

Como medidas de mitigação do efeito das mudanças climáticas, aconselhamos a implementação de ações que visem restabelecer a conectividade entre os fragmentos com maior probabilidade de se manterem em uma perspectiva de mudanças climáticas, bem como entre os remanescentes de florestas de baixadas e altitude com intuito de garantir o acesso das espécies de florestas de baixadas às florestas de altitude e manter o fluxo genético entre as populações. Contudo, se nenhuma ação for desenvolvida para mitigar os possíveis efeitos das alterações climáticas e considerando suas implicações sobre aspectos fisiológicos dos anfíbios, existe um risco considerável de sofrerem efeitos negativos decorrentes do aquecimento previsto ou até mesmo com um novo evento de extinção em massa.

APÊNDICE I: Manuscritos aceitos e publicados a partir de dados coletados ao longo do doutorado

**Advertisement call of *Scinax strigilatus* (Spix, 1824)
 (Anura: Hylidae) from southern Bahia, Brazil**

CAIO VINICIUS DE MIRA MENDES¹, EUVALDO MARCIANO JUNIOR¹, DANILO SILVA RUAS¹,
 RENAN MANOEL DE OLIVEIRA² & MIRCO SOLÉ³

¹Graduate Program in Ecology and Biodiversity Conservation, Universidade Estadual de Santa Cruz, Rodovia Jorge Amado, km 16, 45662-900 Ilhéus, Bahia, Brazil

²Graduate Program in Zoology, Universidade Estadual de Santa Cruz, Rodovia Jorge Amado, km 16, 45662-900 Ilhéus, Bahia, Brazil

³Department of Biological Sciences, Universidade Estadual de Santa Cruz, Rodovia Jorge Amado, km 16, 45662-900 Ilhéus, Bahia, Brazil

Scinax strigilatus (Spix, 1824) is a member of the *Scinax catharinae* species group that inhabits forested streams in the Atlantic Rainforest of southern Bahia, northeastern Brazil. The loss of the holotype resulted in years of nomenclatural confusion solved with the designation of a neotype and the redescription of the species by Pimenta *et al.* (2007). Aiming to contribute to the taxonomic status and natural history of the species, we describe herein the advertisement call of *Scinax strigilatus* (Fig. 1A).

Calls of one male (SLV = 25.4 mm; n = 7; air temperature = 23° C; MZUESC 10510) were record at Serra Grande Mountain, Itamaraju (16°59'35" S, 39°35'40" W) on 27 April 2012, and calls from another male (SLV = 27 mm; n = 40; air temperature = 21.2° C; MZUESC 10889) were record at Reserva Ecológica Michelin, Igrapiúna (13°49'15" S, 39°11'52" W) on 18 September 2012. Both areas are in southern Bahia, northeastern Brazil. The first recorded individual was found calling while perched on the vegetation of a stream bank, with two more calling males located at a distance of about two meters. The second male was calling alone, also from the vegetation of a stream bank. We used a Marantz PMD 660 digital audio recorder with a unidirectional Yoga HT-320A microphone. Calls were analyzed at a resolution of 16 bits and 48 kHz sampling rate, mono channel. Waveform and spectrogram (Fig. 1B and C) were made using Raven Pro 3 and analyzed with a Fast Fourier Transformation of 256 points, 50% overlap for an entire call and Window Hamming. Terminology follows Duellman and Trueb (1994). Data are presented as mean ± SD (range).

The advertisement call of *S. strigilatus* is pulsed, with one note per call, with mean 6.51 ± 0.41 pulses per call (5-8 pulses). The mean call duration was 0.014 ± 0.0013 (0.011-0.017 seconds). The interval between calls was 11.47 ± 10.68 (1.89 - 55.39 seconds). Pulse per second rate was 455 ± 56 (294.11-545.45 second). The mean dominant frequency was 3.279 ± 150.7 kHz (2.625-3.379 kHz). There is an increasing modulation of the amplitude until the middle of the call, followed by decreasing modulation. There are not noticeable harmonics (Fig. 1C).

The call of *S. strigilatus* has a pulsed structure, common to the calls of the genus *Scinax* (Pombal *et al.* 1995). Within the *S. catharinae* clade (sensu Faivovich 2002), the call of *S. strigilatus* is more similar to that of *S. heyeri* and *S. Luizotavioi* considering that the variation in the number of pulses per call in the three species overlap (Peixoto & Weygoldt 1987; Lourenço *et al.* 2009). As in *S. Luizotavioi*, *S. strigilatus* has one note per call, while all other species of the group have more than one note per call.

Nonetheless, the call of *S. strigilatus* differs from the call of all other species in the group by having the shortest call duration (0.011-0.017 seconds). The call duration of other species ranges from 0.08 s in *S. Luizotavioi* (0.08-0.54 seconds) (Lourenço *et al.* 2009) to 52.04 s in *S. berthae* (3.2–52.04 seconds) (Pereyra *et al.* 2012).

Its pulsed, but not harmonic structure, distinguishes the call of *S. strigilatus* from that of *S. albicans*, *S. catharinae* (Heyer 1980) and *S. machadoi* (Bokermann & Sazima 1973), which are pulsed and harmonic.

The dominant frequency of the call of *S. strigilatus* (2.625-3.379 kHz) is higher than that of *S. skaios* (2.20-2.24 kHz) (Pombal *et al.* 2010) and lower than that of *S. agilis* (5.6-7.92 kHz) (Nunes *et al.* 2007), *S. argyreornatus* (5.0-6.5 kHz) (Pombal *et al.* 1995), *S. aromothyella* (4.76-5.53 kHz) (Pereyra *et al.* 2012), *S. berthae* (4.41-5.36 kHz) (Pereyra *et al.* 2012), *S. centralis* (3.20-4.89 kHz) (Pombal & Bastos, 1996; Bastos *et al.* 2011), and *S. machadoi* (3.5 kHz) (Bokermann & Sazima 1973).

Advertisement call of *Rhinella crucifer* (Wied-Neuwied, 1821) (Anura: Bufonidae) from southern Bahia, Brazil

RENAN MANOEL DE OLIVEIRA¹, DANILO SILVA RUAS², CAIO VINICIUS DE MIRA MENDES²
& MIRCO SOLÉ³

¹Graduate Program in Zoology, Universidade Estadual de Santa Cruz, Rodovia Jorge Amado, km 16, 45662-900 Ilhéus, Bahia, Brazil

²Graduate Program in Ecology and Biodiversity Conservation, Universidade Estadual de Santa Cruz, Rodovia Jorge Amado, km 16, 45662-900 Ilhéus, Bahia, Brazil

³Department of Biological Sciences, Universidade Estadual de Santa Cruz, Rodovia Jorge Amado, km 16, 45662-900 Ilhéus, Bahia, Brazil

The *Rhinella crucifer* species group is currently composed by six species: *Rhinella crucifer* (Wied-Neuwied, 1821); *R. ornata* (Spix, 1824); *R. henseli* (A. Lutz, 1924); *R. abei* (Baldissera, Caramaschi & Haddad, 2004); *R. pombali* (Baldissera, Caramaschi & Haddad, 2004) and *R. inopina* Vaz-Silva, Valdujo & Pombal, 2012. Until 2012, the group was known to occur only in the Brazilian Atlantic Rain Forest from Rio Grande do Sul to Ceará, and adjacent areas in Minas Gerais and São Paulo (Baldissera *et al.* 2004). The recently described *R. inopina* revealed an allopatric distribution, occurring in forest vegetation types in eastern Cerrado (Vaz-Silva *et al.* 2012). *Rhinella crucifer* (Wied-Neuwied, 1821), occurs throughout the Atlantic Rain Forest from Rio de Janeiro to Ceará including the northeast of Minas Gerais (Baldissera *et al.* 2004; Frost, 2014). Only two species in the group have described calls: *R. ornata* as *Bufo crucifer* in Heyer *et al.* (1990) and *R. pombali* (Lourenço *et al.* 2010). The type locality of *R. crucifer* was informed as being between São Pedro de Alcântara in Santa Catarina and Barra da Vereda in Bahia, but as stated by Bokermann (1966) the type locality can be narrowed down to an area between the rivers Piabanda and Issara, both affluents of the Ilhéus river, approximately 40 km above the municipality of Itabuna. Herein we describe the advertisement call of *R. crucifer* from a population in the municipality of Igrapiúna, Bahia, Brazil, located less than 100 km from the city of Itabuna.

Between August and October 2012 we recorded 33 calls from several males, calling in a temporary pond located in the Atlantic Rain Forest domain in the Michelin Ecological Reserve, Igrapiúna, southern Bahia (13°49'15" S, 39°11'52" W). *Rhinella crucifer* is an explosive breeder showing opportunistic behavior during mate selection and males alternate between calling activity, territorial behavior and quiet periods. Due to the difficulty of recording single individuals, we cannot state how many individual males were recorded, since records were made in six different occasions in the same population, thus the same males may have been recorded more than one time. Males were found calling at night, above partly submerged leaves, trunks and also at the edge of the pond (Fig. 1A). *Rhinella crucifer* was identified combining distribution data (Thomé *et al.*, 2012) and morphological characters like absence of vertebral line and absence of yellow marks on flanks (Baldissera *et al.*, 2004; Vaz-Silva *et al.*, 2012). We used a Marantz PMD 660 digital audio recorder with a unidirectional Yoga HT-320A microphone. Calls from several males were pooled and analyzed at a resolution of 16 bits and 48 kHz sampling rate, mono channel. Waveform and spectrogram (Fig. 1B and C) were made using Raven Pro 1.3 (Bioacoustics Research Program, 2008) and analyzed with a Fast Fourier Transformation of 256 points, 50% overlap for an entire call and Window Hamming. Terminology of temporal and acoustic parameters follows Heyer *et al.* (1990). Data are presented as mean ± standard deviation (range). One individual of the recorded population was collected as voucher specimen (MZUESC-12167, SVL = 99.7 mm). Measures of note duration and interval between notes were made using five notes from the middle of the call and five notes from the beginning. Mean air temperature during recordings was 22°C (21°C–24°C) and mean air humidity was 95% (92%–99%).

The advertisement call of *R. crucifer* has no harmonic structure and is composed by a series of pulsed notes (Fig. 1B, 1C). The call begins quietly, with the first notes shorter than the following, quickly becoming intense and staying intense. The mean call duration was 3.54 ± 0.85 s (1.47–5.53 s; N = 33) with 72 ± 16 notes per call (31–104; N = 33). The first notes were shorter than the following ones. First notes duration was 0.016 ± 0.004 s (0.008–0.029 s; N = 145) and the center call notes duration was 0.027 ± 0.003 s (0.017–0.035 s; N = 130). The mean interval of first notes was 0.031 ± 0.006 s (0.015–0.044 s; N = 116) and central notes last 0.023 ± 0.013 s (0.011–0.15 s; N = 104). The mean dominant

Defensive behaviours in the Bahia forest frog *Macrogenioglottus alipioi* Carvalho, 1946 (Anura: Odontophrynidae), with a review of the stiff-legged posture

Caio Vinícius de Mira-Mendes^{1,*}, Danilo Silva Ruas¹, Indira Castro², Mirco Solé³
and Julio Ernesto Baumgarten³

Macrogenioglottus alipioi Carvalho, 1946 is a large odontophrynid toad that occurs in the Atlantic Forest domain from the state of São Paulo to Alagoas (Frost 2015; Bourgeois 2010). It inhabits the leaf litter of preserved forests and can be found calling in temporary ponds formed on the forest floor after extremely heavy rains during explosive breeding events (Abravaya and Jackson 1978).

Amphibians serve as prey for a great variety of animals including vertebrates, as well as some arthropods (Wells 2007). To avoid being preyed upon, they have evolved several defensive strategies, which provide protection from potential predators (Duellman and Trueb 1986). Among anurans, 31 defensive behaviours were recognized by Toledo et al. (2011), mostly associated to remaining motionless or fleeing (Jared et al. 2011). We report a sequence of defensive behaviours performed by *Macrogenioglottus alipioi* in an Atlantic forest fragment in Northeastern Brazil.

On June 06, 2015, at 22.30 h, during fieldwork in the Michelin Ecological Reserve (13°49'35" S, 39°08'32"

W, approximately 90–400 m a.s.l.), located in the municipality of Igrapiúna, southern Bahia, Brazil, we found an adult male of *M. alipioi* calling in a temporary pond inside a forest fragment. We captured the individual to take some photographs and the toad immediately reacted by inflating its body (Figure 1A). After placing it back on the forest floor it kept this posture (Figure 1B), and when touched, directed its back towards the hand, performing a body-tilting posture (Figure 1C). Then the toad tried to escape and reacted to our attempt to recapture it by flattening its body on the floor and stretching out its legs (Figure 1D), adopting the posture called stiff-legged behaviour (*sensu* Toledo et al. 2011). The toad remained in this position for about 10 minutes, and then tried to flee again.

Puffing-up-the-body is a common behaviour performed by anurans. It consists of enlarging the body size by filling the lungs with air (Toledo et al. 2011). This increase in size may discourage the predator to capture it (Williams et al. 2000; Toledo et al. 2011). In some cases, puffing-up-the-body may be accompanied by other defensive postures, such as body-tilting. This defensive behaviour consists of directing the dorsal part of the body towards the predator (Toledo et al. 2011). In toads with dorsal macroglands, such as *M. alipioi*, by adopting a body-tilting posture the glands would most likely be the first part of the toad's body that the predator would bite. Thus, noxious secretions could come into contact with the mouth of the predator, allowing the escape of the toad (Toledo et al. 2011).

Stiff-legged behaviour has been reported for forest-floor toads that have cryptic colouration (Toledo et al. 2011). According to Sazima (1978), this behaviour may protect the toad against visually oriented predators,

¹ Graduate Program in Ecology and Biodiversity Conservation, Universidade Estadual de Santa Cruz, Rodovia Jorge Amado, km 16, 45662-900 Ilhéus, Bahia, Brazil

² Graduate Program in Zoology, Universidade Estadual de Santa Cruz, Rodovia Jorge Amado, km 16, 45662-900 Ilhéus, Bahia, Brazil

³ Department of Biological Sciences, Universidade Estadual de Santa Cruz, Rodovia Jorge Amado, km 16, 45662-900 Ilhéus, Bahia, Brazil

* Corresponding author e-mail: caio_vina@yahoo.com.br



Escalated antipredator mechanisms of two neotropical marsupial treefrogs

Ricardo Lourenço-de-Moraes¹, Rodrigo B. Ferreira^{2,3,4}, Caio C.V.M. Mendes⁵, Cassio Z. Zocca⁴, Tadeu Medeiros⁵, Danilo S. Ruas⁷, Raoni Rebouças⁷, Luís Felipe Toledo⁸, Edmund D. Brodie Jr.⁹ & Mirco Solé¹⁰

¹Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais (PEA), Universidade Estadual de Maringá, PR, Brazil

²Department of Wildland Resources and Ecology Center, Utah State University, 84322, Logan, UT, USA

³Laboratório de Ecologia de Populações e Conservação, Universidade Vila Velha, 29102-920, Vila Velha, ES, Brazil

⁴Sociedade dos Amigos do Museu de Biologia Mello Leitão, Av. José Ruschi, n.º 4, 29650-000, Santa Teresa, ES, Brazil

⁵Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Estadual de Santa Cruz, BA, Brazil

⁶Conselho de Curadores das Coleções Científicas da Universidade Estadual de Santa Cruz, BA, Brazil

⁷Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brazil

⁸Laboratório de História Natural de Anfíbios Brasileiros (LAHNAB), Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, SP, Brazil

⁹Department of Biology and the Ecology Center, Utah State University, 84322, Logan, UT, USA

¹⁰Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz, BA, Brazil

The sequence and intensity of antipredator mechanisms may be displayed according to the risk of predation. We tested this hypothesis using two species of marsupial treefrogs from Brazil's Atlantic Forest. We observed *Gastrotheca recava* and *G. megacephala* displaying nine antipredator mechanisms and three types of defensive calls. These behaviours were displayed in an escalated sequence from motionless (passive behaviour) to biting (the most aggressive behaviour). This diversified set of antipredator mechanisms may be related to the interaction between predator and prey at the local scale. The escalated sequence of defensive behaviours should be considered in future studies on anuran-predator interaction.

Key words: Amphibia, Atlantic forest, defensive behaviour, defensive call, *Gastrotheca*, Hemiphractidae

INTRODUCTION

Studies of predator-prey interactions continue to be one of the most fascinating and important aspects of ecological research (Mukherjee & Heithaus, 2013). Due to selective pressures from a variety of predators, anurans display a wide diversity of antipredator mechanisms (at least 31 types) that range from immobility to aposematic behaviours and defensive calls (Toledo et al., 2010, 2011; Jared et al., 2011; Haddad et al., 2013). Anuran antipredator mechanisms are diverse not only in their variety but also how and when they are displayed.

The diversity of antipredator mechanisms of amphibians may depend primarily on the characteristics of their skin secretions (Brodie, 1977, 1983), which may be noxious and toxic (Daly et al., 1987; Bevins & Zasloff, 1990; Erspamer, 1994) or adhesive (Arnold, 1982; Evans & Brodie, 1994). Skin secretions often act synergistically with defensive behaviour and aposematic colour patterns

(Johnson & Brodie, 1975; Brodie, 1977, 1983; Williams et al., 2000; Toledo et al., 2011).

Studies have shown that an individual frog may display several behaviours, which are presumably exhibited according to the degree of stress imposed by the predator (Williams et al., 2000). Some behaviours are displayed exclusively during the approach and others exclusively during handling of the potential predator (Toledo et al., 2005; Ferreira et al., 2013; Lourenço-de-Moraes et al., 2014). In addition, studies have shown that there are differences of antipredator mechanisms across species, populations, and sexes (Williams et al., 2000; Toledo et al., 2005; Heyer & Giaretta, 2009).

Predation involves several phases such as locate, identify, approach, subjugate, ingest, and digest prey (Edmunds, 1974). Therefore, one can hypothesise that the more types of antipredator mechanisms a species displays, the more likely it will escape from different predators. However the sequence of the behaviours may be more

Correspondence: Ricardo Lourenço-de-Moraes (ricardo_lmoraes@hotmail.com)