



MICHELLE ABADIE DE VASCONCELLOS

CONSERVAÇÃO DO SAPINHO-ADMIRÁVEL-DE-BARRIGA-VERMELHA,

MELANOPHRYNISCUS ADMIRABILIS (ANURA: BUFONIDAE):

ESTUDO DE ECOLOGIA POPULACIONAL

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA
ANIMAL, INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL,
PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM
BIOLOGIA ANIMAL.

ORIENTADOR: PROF. DR. MÁRCIO BORGES-MARTINS

CO-ORIENTADOR: PROF. DR. GONÇALO FERRAZ

PORTO ALEGRE

2015

CONSERVAÇÃO DO SAPINHO-ADMIRÁVEL-DE-BARRIGA-VERMELHA,

MELANOPHRYNISCUS ADMIRABILIS (ANURA: BUFONIDAE):

ESTUDO DE ECOLOGIA POPULACIONAL

MICHELLE ABADIE DE VASCONCELLOS

ORIENTADOR: PROF. DR. MÁRCIO BORGES-MARTINS

CO-ORIENTADOR: PROF. DR. GONÇALO FERRAZ

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL,
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, PARA OBTENÇÃO DO
TÍTULO DE MESTRE EM BIOLOGIA ANIMAL.

PORTO ALEGRE

2015

“– Acha que estou enlouquecendo?”

– Acho que sim. Você está louca, maluca, completamente pirada.

Mas vou te contar um segredo...

As melhores pessoas são assim.”

Alice no país das Maravilhas

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que, de um jeito ou outro, contribuíram para a realização deste trabalho:

Aos meus pais, que me apoiaram sempre nas minhas escolhas, mesmo às vezes não as entendendo. Que me deram suporte, atenção, carinho, principalmente quando tudo parecia desabar. Até pra campo eles foram comigo! Sou muito orgulhosa dos pais que eu tenho! Mãe e pai, sem vocês teria sido tudo muito mais difícil... Obrigada pelo amor incondicional! Aproveito pra agradecer também à minha vózinha, que nem sabe o que é isso, mas que me apoia e vibra sempre junto!!

Ao Isma, meu companheiro, amigo, psicólogo, “co-autor” de todos os meus trabalhos (um dia ainda vamos publicar juntos!). Não sei nem por onde começar a te agradecer! Obrigada por todas as noites perdidas de sono (e eu sei o quanto isso te custa! hehe), enquanto tu me ajudava a planejar campo, escrever um resumo, analisar os dados... Obrigada por quase fazer parte da equipe fixa de campo (eu sei que lá no fundo, tu sempre queria ir junto! hahaha)! Obrigada por fazer parte indispensável da minha vida!

A Mana, que me dá colo, me faz rir, me puxa as orelhas... parece até a irmã mais velha! Obrigada por entender a minha ausência, por aderir e disseminar as minhas bicho-grílices e por depositar tanta confiança em mim! Que bom que eu tenho a ti!

A dinda Márcia, dindo Toninho e a Lelê, que sempre me incentivaram a buscar meus sonhos, mesmo que isso custasse a minha presença. Obrigada pelo amor, pela compreensão, pela força e pelo entusiasmo!

Ao meu orientador, Márcio, vulgo “chefe”. Obrigada por acreditar em mim! Obrigada por me instigar a saber mais, a me questionar, a entender melhor... Obrigada por me ensinar a ser cientista! Obrigada também pelas palavras de conforto e por às vezes ser mais meu amigo do que meu orientador!

A minha parceira de campo e divisora de todas as angústias e dificuldades do mestrado: Thay. Eu não teria conseguido sem ti, amiga! Obrigada pela companhia, pela parceria, por aguentar firme minhas chatices, minha mania de querer controlar tudo e todos, obrigada pela amizade fraternal (sempre muito intensa)!! P.S. Não fica com

ciúmes, Milinha, tu também é minha sister!!! Hahaha E te agradeço muito pela amizade e por todas as palavras certas nas horas certas! =)

A minha amiga, chefe do laboratório e sogra, Prof. Laura. Além da importância fundamental na minha trajetória herpetológica, te agradeço pelos ensinamentos da vida! Obrigada pelo carinho, pelo apoio, pela confiança! Obrigada por permitir que eu me sinta em casa, quando na verdade estou na tua! Não podia deixar de agradecer à Gabi também... obrigada pelas risadas e por (tentar) aguentar a gente falando de bio sempre!! Valeu fera!!

A Juju e a Manu. Obrigada por, juntas, formarmos uma equipe de verdade! Obrigada por tornarem o campo mais divertido e, ao mesmo tempo, mais organizado! Obrigada por segurarem as pontas junto com a gente, pelas conversas intermináveis e pela curiosidade (que também me motiva a querer saber mais)! Obrigada pela amizade e companhia!

Ao meu co-orientador, Gonçalo. Muito obrigada pela confiança, pela atenciosidade e pela paciência!

Ao meu quase co-orientador, Murilo (na verdade, só faltaria oficializar isso). Muito obrigada por toda a ajuda, pela paciência e dedicação. Aprendi muito contigo e não teria conseguido sem tua ajuda!

Obrigada a todos aqueles que fizeram parte das equipes de campo: Lui, Isma, Alexis, Valen, Mila, Bru, Irina, Patrick, Lúdia, Claudinho, Paulinho, Bibis, Debs, Cami Camargo, Natizinha, Cássia, Bianca, Alexandre, Arthur, Mariano e Nathi Matias. E aos que fizeram troca de equipe, na parceria: Isma, Alexis, pai e mãe, Laura, Anita. Gente, muitíssimo obrigada!

Não podia deixar de agradecer especialmente à Valen, que sempre esteve disposta e empolgada quando eu precisava dela pra ir pra campo ou discutir algum fato relacionado aos melanos. Muito obrigada, florzinha!

Ao Lui (de novo), Carol Zank e Patrick. Vocês não fazem ideia o quanto me inspiram! Muito obrigada por todos os ensinamentos, pelas discussões e por toda a ajuda de sempre!!

Ao Curicaca, especialmente ao Alexandre e ao NuCAR. Aprendi a fazer conservação com vocês!

A todos os colegas e amigos do Laboratório de Herpetologia, em especial às colegas de sala, Mila, Thay, Mari e Lídia. Muito obrigada por fazerem meus dias de trabalho muito mais divertidos!!

Às minhas amigas lindas, Anita, Bru, Lu, Dange, Mila, Mari, Iri, Valen e Thay (de novo). Vocês são foda! Só isso que tenho pra dizer!

A Capes, pela bolsa de mestrado.

A Fundação Grupo o Boticário, a Mohamed Bin Zayed *Species Conservation Fund*, Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Répteis e Anfíbios (RAN/ICMBio) e Programa de Pós Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul pelo financiamento da pesquisa.

Ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade pela concessão das licenças de coleta (SISBIO 25463-1 e 40004-1).

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	8
REFERÊNCIAS	13
CAPÍTULO 1: ECOLOGIA POPULACIONAL DE UM ANURO MICROENDÊMICO, ELUSIVO E AMEAÇADO: O SAPINHO-ADMIRÁVEL-DE-BARRIGA-VERMELHA <i>MELANOPHRYNISCUS ADMIRABILIS</i> (ANURA: BUFONIDAE)	16
RESUMO	17
PALAVRAS-CHAVE	18
INTRODUÇÃO	19
MÉTODOS	22
RESULTADOS	30
DISCUSSÃO	36
AGRADECIMENTOS	43
REFERÊNCIAS	44
CONCLUSÃO GERAL	50

APRESENTAÇÃO

Todos os programas de conservação e de monitoramento têm como suporte para a tomada de decisões o *status* de conservação de uma espécie. Logo, a inclusão da espécie em uma categoria de ameaça é o primeiro passo para sua proteção legal. Nesse sentido, a União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN, 2015) recomenda que sejam realizados, além de estudos acerca da distribuição das espécies, estudos referentes aos seus parâmetros populacionais. O conhecimento desses parâmetros permite avaliar o *status* de conservação da espécie de maneira mais refinada, utilizando também como critério de ameaça o declínio populacional e o número de indivíduos maduros de uma população. Normalmente esses critérios não são utilizados nas avaliações por falta de informação, principalmente quando se trata de anfíbios anuros.

Métodos de marcação e recaptura são frequentemente empregados em estudos demográficos, comportamentais e reprodutivos, os quais exigem o reconhecimento específico dos indivíduos (Donnelly *et al.*, 1994; Krebs, 1999). Numerosas técnicas de marcação individual estão disponíveis para o uso em anfíbios adultos e as mais tradicionais envolvem uma marcação artificial, como a amputação de falanges, a implantação de elastômeros (marcação subcutânea com um polímero fluorescente), Transponder Integrado Passivo (PIT) ou tatuagens. A amputação de falanges é a técnica de marcação mais amplamente utilizada em anfíbios, por ser de fácil aplicação e baixo custo (Donnelly *et al.*, 1994; Ferner, 2007; Beausoleil *et al.*, 2004). No entanto, técnicas consideradas invasivas têm sido frequentemente questionadas e revisadas e cada vez mais os pesquisadores estão interessados em técnicas de marcação e maneiras não invasivas de identificar os indivíduos (Davis & Ovaska, 2001; Ferner, 2007). Além da preocupação com a qualidade dos estudos (e.g. Parris & McCarthy, 2001; McCarthy &

Parris, 2004; Bradfield, 2004, Miranda et al., 2005), questões éticas e de conservação também têm sido debatidas (Halliday, 1994; May, 2004; Funk et al., 2005; Perry et al., 2011) a fim de minimizar os distúrbios causados nas populações de anfíbios.

Uma alternativa às técnicas de marcação artificial é o reconhecimento dos indivíduos através do seu padrão de marcas naturais (Ferner, 2007; Caorsi, *et al.*, 2012; Elgue *et al.*, 2014;), registrando as capturas por meio de fotografias. Embora o reconhecimento individual de anfíbios através de marcas naturais normalmente envolva a manipulação deles, a técnica de fotoidentificação está se tornando popular para espécies que requerem maiores cuidados (Beausoleil *et al.*, 2004), como as ameaçadas ou endêmicas. Nesses casos, a fotoidentificação é a alternativa ideal para estudos que exigem marcação dos indivíduos (Kelly, 2001).

Os sapinhos-de-barriga-vermelha, do gênero *Melanophryniscus* Gallardo, 1961, formam um grupo de divergência muito antiga na família Bufonidae (Cretáceo superior; Pramuk, 2007). Eles ocorrem exclusivamente na América do Sul, distribuindo-se desde a Bolívia e Espírito Santo, ao norte, até o Uruguai e nordeste da Argentina, ao sul. Estão representados atualmente por 26 espécies (Frost, 2015) e o Brasil é detentor de uma grande parcela dessa riqueza, com 17 espécies reconhecidas até o momento (Segalla *et al.*, 2012; Peloso *et al.*, 2012). Essas espécies são de grande interesse para a conservação e para a farmacologia, visto que suas glândulas liberam alcaloides provenientes de uma dieta rica em artrópodes (Daly *et al.*, 2007). Muitas ocorrem em áreas restritas e sob um forte impacto ambiental, o que as predispõe a problemas de conservação. Contudo, para a maioria dessas espécies inexitem estudos de história natural, de distribuição geográfica e de ecologia populacional, o que dificulta uma correta avaliação do seu status de conservação. As espécies do gênero apresentam um comportamento defensivo chamado “unken reflex” e, até recentemente, também se

caracterizavam por um período reprodutivo associado a corpos d'água temporários, formados após fortes chuvas (reprodução explosiva). No entanto, estudos atuais sugerem que a biologia reprodutiva do gênero é muito mais complexa e diversificada entre as espécies do que se imaginava (e.g. fitotelmatas: *M. alipioi*, Langone *et al.*, 2008, *M. vilavelhensis*, Steinbach-Padilha, 2008 e *M. setiba*, Peloso *et al.*, 2012).

Melanophryniscus admirabilis Di Bernardo, Maneyro & Grillo, 2006 é um exemplo da carência de informações. Trata-se de uma espécie de distribuição altamente restrita, endêmica de apenas uma localidade e avaliada recentemente como Criticamente Em Perigo (CR; ICMBio, 2014; IUCN SSC Amphibian Specialist Group 2013). Por isso, é uma das prioridades para a conservação da herpetofauna no sul do Brasil (Brasil, 2012. Portaria nº 25, de 17 de fevereiro de 2012).

A espécie habita aproximadamente 700 m ao longo das margens do rio Forqueta, no Perau de Janeiro, Município de Arvorezinha, Rio Grande do Sul, em um vale estreito, limitado por encostas íngremes. Os indivíduos de *M. admirabilis* utilizam como sítio reprodutivo pequenas poças formadas no lajedo (Di-Bernardo *et al.*, 2006), nas margens rochosas, e a disponibilidade dessas poças varia periodicamente, dependendo do nível do rio. Durante estudos prévios, pudemos observar indivíduos reprodutivos em ambos os lados do rio, ao longo da margem esquerda e ao longo da margem direita, no Perau de Janeiro.

O Perau de Janeiro está localizado em um dos maiores fragmentos de Mata Atlântica da região, mas que vem sendo destruído principalmente devido à monocultura de fumo, de soja e de eucaliptos e à criação de gado. A classificação de *M. admirabilis* como CR no âmbito das listas regional, nacional e mundial deveu-se a essas ameaças, acrescidas do potencial para biopirataria, dos agrotóxicos utilizados nas plantações de

fumo, do pisoteio de turistas no sítio reprodutivo e, sobretudo, devido à iminente instalação de uma usina hidrelétrica no Perau de Janeiro. Desde 2004 existe um projeto para a implantação da Pequena Central Hidrelétrica Perau de Janeiro (FEPAM, 2010), o qual foi arquivado (Fonte *et al*, 2014). A Casa de Força da usina estava prevista para ser instalada a cerca de 500 m à montante do sítio reprodutivo da única população conhecida da espécie, colocando-a em alto risco de extinção. Mesmo que a inclusão da espécie nas listas de fauna ameaçada tenha contribuído muito para retroceder o processo de licenciamento, a sobrevivência de *M. admirabilis* pode depender do desenvolvimento de políticas específicas para sua conservação, já que a área tem grande potencial hidrelétrico e grande potencial turístico. Por isso, é importante que possamos responder algumas questões referentes à ecologia e à história natural da espécie, a fim de que tenhamos conhecimento suficiente para estabelecer prioridades de conservação e elaborar estratégias de ação.

ESTUDO DE ECOLOGIA POPULACIONAL

Todos os programas de monitoramento propõem detectar as mudanças no tamanho das populações e assim, controlar possíveis declínios ao longo do tempo. Dessa forma, os estudos dos parâmetros demográficos populacionais tornam-se necessários para a avaliação do *status* de conservação das espécies, sendo fortemente recomendados pela União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN, 2015).

Na definição dos métodos para estimar os parâmetros populacionais, deve-se considerar dois modelos de população. Os quatro parâmetros que afetam o tamanho da população são a natalidade, a mortalidade, a imigração e a emigração (Krebs, 1999). Aquelas populações, nas quais não há nascimento, morte e migração de indivíduos,

durante o período de amostragem, são chamadas de populações fechadas. Ou seja, o tamanho de uma população fechada não se altera durante a sua amostragem. Por outro lado, nas consideradas populações abertas ocorre nascimento, morte e migração durante o período de amostragem (Fernandez, 1995).

A realização de estudos demográficos em espécies do gênero *Melanophryniscus* é particularmente complexa, devido à dificuldade de encontro dos indivíduos na natureza, usualmente possível durante eventos de reprodução explosiva. No entanto, *Melanophryniscus admirabilis* apresenta uma atividade mais prolongada numa escala temporal maior (M. Abadie, *dados não publicados*). Dessa forma, o estudo dos parâmetros demográficos, como estimativa de tamanho populacional e taxa de sobrevivência são viáveis e importantes, já que pouco ou nada se conhece sobre ecologia populacional das espécies do gênero.

OBJETIVO GERAL

Essa dissertação teve como objetivo estimar os parâmetros populacionais do sapinho-admirável-de-barriga-vermelha, a fim de gerar ferramentas para a conservação e monitoramento da espécie e para a proteção e manejo da área onde a única população é conhecida.

REFERÊNCIAS

- Beausoleil, N.J., D.J. Mellor, and K.J. Stafford. 2004. Methods for marking New Zealand wildlife: amphibians, reptiles and marine mammals. Department of Conservation, Wellington, 147 pp.
- Bradfield, K.S. 2004. Photographic identification of individual Archey's Frogs, *Leiopelma archeyi*, from natural markings. DOC Science Internal Series, 191:1-36.
- Brasil. 2012 Portaria nº 25, de 17 de Fevereiro de 2012. Aprova o Plano de Ação Nacional para Conservação de Répteis e Anfíbios Ameaçados da Região Sul do Brasil - PAN Herpetofauna do Sul. Diário Oficial da União, Brasília, nº 36, p. 67-68, 22/FEV/2012.
- Caorsi, V.Z., R.R. Santos, & T. Grant. 2012. Clip or Snap? An Evaluation of Toe-Clipping and Photo-Identification Methods for Identifying Individual Southern Red-Bellied Toads, *Melanophryniscus cambaraensis*. South American Journal of Herpetology, 7(2):79-84.
- Daly, J. W., J. Wilham, T. Spande, H. Garraffo, R. Gil, G. Silva, and M. Vaira. 2007. Alkaloids in bufonid toads (*Melanophryniscus*): temporal and geographic determinants for two Argentinian species. Journal of Chemical Ecology 33:871-887.
- Davis, T.M., and K. Ovaska. 2001. Individual Recognition of Amphibians: Effects of Toe Clipping and Fluorescent Tagging on the Salamander *Plethodon vehiculum*. Journal of Herpetology, 35(2):217-225.
- Di-Bernardo, M., R. Maneyro, and H. Grillo. 2006. New Species of *Melanophryniscus* (Anura: Bufonidae) from Rio Grande do Sul, Southern Brazil. Journal of Herpetology, 40(2):261-266.
- Donnelly, M.A. and C. Guyer. 1994. Estimating population size - Mark-recapture. pp. 183-200. In: W.R. Heyer, M.A. Donnelly, R.W. McDiarmid, L.A.C. Hayek, M.S. Foster, (Eds). Measuring and Monitoring Biological Diversity - Standard Methods for Amphibians. Smithsonian Institution Press. Washington D. C.
- Elgue, E., G. Pereira, F. Achaval-Coppes, R. Maneyro. 2014. Validity of photo-identification technique to analyze natural markings in *Melanophryniscus montevidensis* (Anura: Bufonidae). Phyllomedusa 13(1):59-66.
- Fernandez, F.A.S. 1995. Métodos para estimativas de parâmetros populacionais por captura, marcação e recaptura. Oecologia brasiliensis 2: 1-26.
- Ferner, J. W. 2007. A Review of Marking and Individual Recognition Techniques for Amphibians and Reptiles. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Salt Lake City, Utah. 72 pp.

- Fonte, L. F. M. da, M. Abadie, T. Mendes, C. Zank, M. Borges-Martins. 2014. The Times they are a-changing: How a Multi-Institutional Effort Stopped the Construction of a Hydroelectric Power Plant that Threatened a Critically Endangered Red-Belly Toad in Southern Brazil. *FrogLog* 22(4):18-21.
- Frost, Darrel R. 2015. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 5.6 (9 January 2015). Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York, USA.
- Funk, W.C., M.A. Donnelly, and K.A. Lips. 2005. Alternative views of amphibian toe-clipping. *Nature*, 433:193.
- Gallardo, J.M. 1961. La ubicación sistemática y distribución geográfica de Brachycephalidae argentinos. In: I^ª Reunión de Trabajo y Comunicaciones de Ciencias Naturales y Geografía del Litoral Argentino. Universidad Nacional de Santa Fe, Santa Fe, pp. 205–212.
- Halliday, T. 1994. Marking amphibians by toe-clipping. *FrogLog*, 10:2-3.
- ICMBio 2014. Lista das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção (Portarias MMA n° 444/2014 e n° 445/2014). <http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/fauna-brasileira/lista-de-especies.html>. Acessado em 15 julho 2015.
- IUCN SSC Amphibian Specialist Group. 2013. *Melanophryniscus admirabilis*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2015.2. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 04 August 2015.
- IUCN, Conservation International, and NatureServe. 2015. Global Amphibian Assessment. On Line, disponível em: <http://www.iucnredlist.org/apps/redlist/search>. Acessado em Julho/2015.
- Kelly, M. J. 2001. Computer-aided photograph matching in studies using individual identification: an example from Serengeti cheetahs. *Journal of Mammalogy*, 82:440-449.
- Krebs, C.J. 1999. *Ecological Methodology*. Menlo Park, California, 619 pp.
- Langone, J.A., Segalla, M.v., Bornschein, M. & de Sá, R.o. 2008. A new reproductive mode in the genus *Melanophryniscus* Gallardo, 1961 (Anura: Bufonidae) with description of a new species from the state of Paraná, Brazil. *South American Journal of Herpetology* 3, 1-9.
- May, R.M. 2004. Ethics and amphibians. *Nature*, 431:403.
- McCarthy, M.A., and K.M. Parris. 2004. Clarifying the effect of toe clipping on frogs with Bayesian statistics. *Journal of Applied Ecology*, 41:780–786.

- Miranda, T., M. Ebner, M. Solé, and A. Kwet. 2005. Estimativa populacional de *Pseudis cardosoi* com emprego de método fotográfico para reconhecimento individual. *Biociências*, 13: 49-54.
- Parris, K.M. and M.A. McCarthy. 2001. Identifying effects of toe-clipping on anuran return rates: the importance of statistical power. *Amphibia-Reptilia*, 22: 275–289.
- Peloso, P. L. V.; Faivovich, J.; Grant, T.; Gasparini, J. L. & Haddad, C. F. B. 2012. An extraordinary new species of *Melanophryniscus* (Anura, Bufonidae) from southeastern Brazil. *American Museum Novitates*. Number 3762, 31 pp.
- Perry, G., M.C. Wallace, D. Perry, H. Curzer, and P. Muhlberger. 2011. Toe Clipping of Amphibians and Reptiles: Science, Ethics, and the Law. *Journal of Herpetology*, 45:547-555.
- Pramuk, J. B., T. Robertson, J. W. Sites Jr., and B. P. Noonan. 2007. Around the world in 10 million years: biogeography of the nearly cosmopolitan true toads (Anura: Bufonidae). *Global Ecology and Biogeography*.
- Segalla, M. V.; Caramaschi, U.; Cruz, C. A. G.; Garcia, P. C. A.; Grant, T.; Haddad, C.F. B.; Langone, J. 2012. Brazilian amphibians – List of species. Accessible at <http://www.sbherpetologia.org.br>. Sociedade Brasileira de Herpetologia. Captured on 25 April, 2013.
- Steinbach-Padilha, G. C. 2008. A new species of *Melanophryniscus* (Anura, Bufonidae) from the Campos Gerais region of Southern Brazil. *Phyllomedusa*, 7 (2): 99-108.

NOTA: Para as dissertações de Mestrado que forem apresentadas em forma artigo, o Programa de Pós-graduação em Biologia Animal estabelece que o manuscrito seja colocado nas normas editoriais exigidas pelo periódico científico escolhido para publicação. A fim de facilitar a leitura, as tabelas, figuras e legendas foram incluídas ao longo do texto e não ao final, como é usualmente solicitado para submissão.

Este manuscrito foi formatado conforme normas da revista BIOTRÓPICA.

**Ecologia Populacional de um Anuro Microendêmico, Elusivo e Ameaçado:
o Sapinho-admirável-de-barriga-vermelha *Melanophryniscus admirabilis*
(Anura: Bufonidae)**

Michelle Abadie¹, Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9500, Porto Alegre, Brasil.

Murilo Guimarães, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9500, Porto Alegre, Brasil.

Thayná Mendes, Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9500, Porto Alegre, Brasil.

Gonçalo Ferraz, Departamento de Ecologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9500, Porto Alegre, Brasil.

Márcio Borges- Martins, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9500, Porto Alegre, Brasil.

¹ Autor para correspondência: abadie.mi@gmail.com

RESUMO

O conhecimento sobre parâmetros populacionais vitais é uma importante ferramenta para a conservação das espécies, permitindo refinar a avaliação do *status* de conservação e servindo como base para programas de conservação e manejo. A grande lacuna de conhecimento sobre a ecologia das espécies do gênero *Melanophryniscus* deve-se, sobretudo, à dificuldade de encontrá-los na natureza quando não estão se reproduzindo. Nesse trabalho, empregamos modelos de marcação e recaptura para estimar sobrevivência, emigração temporária, probabilidade de captura e de recaptura e abundância da única população conhecida do ameaçado sapinho-admirável-de-barriga-vermelha, *Melanophryniscus admirabilis*. Coletamos os dados em intervalos irregulares entre outubro de 2010 e setembro de 2014. Para a identificação individual, usamos o método de fotoidentificação. A sobrevivência anual e a probabilidade de detecção dos indivíduos foram maiores para machos do que para fêmeas. A variação nas taxas de emigração temporária evidenciou a estação reprodutiva da espécie. A probabilidade de captura foi dependente da pluviosidade acumulada dos últimos sete dias e teve um efeito negativo para temperaturas extremas. A abundância no sítio reprodutivo variou de 14 (na estação não-reprodutiva) à 929 indivíduos (na estação reprodutiva). Nossa estimativa de crescimento populacional discreto demonstra que a população parece estável ($\lambda = 1.04$). Nós discutimos a necessidade de proteger a área onde *M. admirabilis* ocorre, assim como recomendamos que programas de conservação e monitoramento sejam implementados, visando manter condições adequadas para a sobrevivência da espécie.

Palavras-chave: conservação; desenho robusto; fotoidentificação; detecção imperfeita; Mata Atlântica; Brasil; Marcação e recaptura; dinâmica populacional.

O DECLÍNIO DAS POPULAÇÕES DE ANFÍBIOS VEM PREOCUPANDO MUITOS PESQUISADORES nas últimas décadas e atualmente o grupo é considerado mais ameaçado que as aves ou os mamíferos (Stuart *et al.* 2004; IUCN 2015). Quase um terço das espécies de anfíbios está ameaçada de extinção globalmente e as principais causas são as mesmas responsáveis pela atual crise na biodiversidade, como perda e fragmentação de habitat e a introdução de espécies exóticas (IUCN 2015). Contudo, principalmente na região Neotropical, as ameaças também estão relacionadas a declínios populacionais de causas desconhecidas ou complexas, de difícil compreensão, tendo impactos particularmente importantes dentro da família Bufonidae (Stuart *et al.* 2004). Doenças infecciosas emergentes, contaminação por agroquímicos, aumento de radiação UV e mudanças climáticas estão entre as possíveis causas destes declínios (AmphibiaWeb 2015).

A inclusão de uma espécie em alguma categoria de ameaça é o primeiro passo para sua proteção legal. Nesse sentido, a União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN 2015) recomenda que sejam realizados, além de estudos acerca da distribuição das espécies, estudos referentes aos seus parâmetros populacionais. O conhecimento desses parâmetros permite avaliar o *status* de conservação de maneira mais refinada, utilizando também como fator de risco de extinção o declínio populacional e o número de indivíduos maduros de uma população (critérios C ou D; IUCN 2015). A maior parte das espécies de anfíbios neotropicais é categorizada exclusivamente por critérios de distribuição geográfica (critério B; IUCN 2015)

Parâmetros populacionais podem ser estimados a partir de modelos de marcação e recaptura. Esses modelos permitem considerar a detecção imperfeita, ou seja, quando a probabilidade de detecção de um indivíduo é menor do que 100% (Williams *et al.* 2002, Guimarães, 2014). Dessa maneira, as estimativas são mais confiáveis e menos

enviesadas. Além do tamanho populacional, alguns modelos permitem acessar os fatores que influenciam a flutuação dessa abundância, estimando parâmetros que ajudam a entender a dinâmica das populações, como a probabilidade de sobrevivência e a emigração temporária.

O Desenho Robusto é uma combinação do modelo Cormack-Jolly-Seber (CJS – modelo de população aberta) e dos modelos de população fechada (*Closed Capture Models*). O modelo de CJS tende a ser mais robusto frente à heterogeneidade na probabilidade de detecção, enquanto que os métodos de população fechada apresentam estimativas de abundância mais confiáveis (Kendall 1999). Essa abordagem permite combinar as vantagens dos dois modelos, a fim de obter estimativas mais confiáveis frente à heterogeneidade (Kendall 1999). Para isso, são incorporadas no modelo amostragens em duas escalas temporais: as ocasiões primárias e, dentro de cada uma destas, as ocasiões secundárias. As ocasiões primárias se distanciam no tempo o suficiente para considerarmos que a população esteja aberta (permitindo a entrada e a saída de indivíduos). O modelo de população fechada assume que não há nascimentos, mortes ou migrações. Logo, as ocasiões secundárias devem ser próximas entre si o suficiente para assumirmos que a população esteja biológica e geograficamente fechada (Kendall 2015).

Os sapinhos-de-barriga-vermelha, do gênero *Melanophryniscus* Gallardo 1961 são representados atualmente por 26 espécies e distribuem-se exclusivamente nas regiões tropical e subtropical da América do Sul (Zank *et al.* 2014; Frost 2015). Muitas das espécies desses pequenos anuros (comprimento rostro-cloacal menor que 50 mm; Garraffo *et al.* 2012) estão ameaçadas de extinção ou apresentam distribuição geográfica restrita (Zank *et al.* 2014; IUCN 2015). Das 23 espécies do gênero avaliadas pela IUCN, oito encontram-se em alguma categoria de ameaça e outras nove estão

classificadas como Quase Ameaçadas ou como Dados Insuficientes (IUCN 2015). Para a maioria das espécies de *Melanophryniscus* inexistem estudos de história natural e de ecologia populacional, o que dificulta uma correta avaliação do seu *status* de conservação. A imensa lacuna de conhecimento sobre as espécies do gênero deve-se, sobretudo, à dificuldade de encontrá-los na natureza quando não estão se reproduzindo (Zank *et al.* 2014). Além disso, somente na última década, oito novas espécies de *Melanophryniscus* foram descritas (Frost 2015), evidenciando que ainda conhecemos muito pouco da biodiversidade e que provavelmente estamos extinguindo espécies antes mesmo de conhecê-las (*e. g.* Coloma *et al.* 2010).

Melanophryniscus admirabilis Di Bernardo, Maneyro & Grillo, 2006 (Fig. 1) é um exemplo da carência de informações sobre a biodiversidade Neotropical. Trata-se de uma espécie com distribuição restrita, endêmica de uma única localidade (no interior do Rio Grande do Sul, Brasil) e que foi avaliada recentemente como Criticamente Em Perigo (CR) de extinção no âmbito mundial (IUCN SSC Amphibian Specialist Group 2013), nacional (ICMBio 2014) e estadual (Decreto Estadual N° 51.797 de 8 de Setembro de 2014). Por isso, *M. admirabilis* é uma das prioridades para a conservação da herpetofauna no sul do Brasil (Brasil 2012. Portaria n° 25, de 17 de fevereiro de 2012). A espécie ocorre em um fragmento de Mata Atlântica em uma região afetada por monoculturas de fumo, eucaliptos e soja e pela criação de gado. A categoria Criticamente Em Perigo foi justificada pelo somatório dessas ameaças, acrescidas da distribuição microendêmica e do potencial para biopirataria, dos insumos agrícolas utilizados nas plantações, do pisoteio de turistas no sítio reprodutivo e, sobretudo, devido à possibilidade de instalação de uma usina hidrelétrica no Perau de Janeiro (Fonte *et al.* 2014). A situação do habitat restrito onde ocorre *M. admirabilis* é frágil e assim sua sobrevivência depende do desenvolvimento de políticas específicas para sua

conservação. Nesse contexto, nosso objetivo foi estudar a dinâmica populacional de *M. admirabilis*, estimando parâmetros que permitam refinar a avaliação do risco de extinção da espécie.



FIGURA 1. *Melanophryniscus admirabilis* no seu hábitat natural (Perau de Janeiro, Arvorezinha, Rio Grande do Sul).

MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDO – A única população conhecida do sapinho-admirável-de-barriga-vermelha ocorre em cerca de 700 metros das margens do rio Forqueta, a aproximadamente 550 m acima do nível do mar, no Perau de Janeiro, Município de Arvorezinha, interior do Rio Grande do Sul (52°18’’W, 28°51’S; Fig. 2). A área está situada no extremo sul da Mata Atlântica, em uma região fitoecológica de transição

entre a Floresta Ombrófila Mista e a Floresta Estacional Decidual (Leite & Klein 1990), apresentando características típicas das duas. O rio Forqueta é um dos principais afluentes da Bacia do rio Taquari-Antas e o Perau de Janeiro localiza-se em uma região muito próxima às cabeceiras, no encontro entre a borda sul do Planalto e a Encosta da Serra Geral. A região engloba rios muito encaixados, caracterizados por encostas de acentuada declividade e apresentando quedas d'água de beleza cênica. Por esta razão, o Perau de Janeiro é um local muito visitado por turistas, principalmente na época mais quente do ano. O clima predominante é o Subtropical Úmido, variedade Cfa (segundo Köppen 1931), que caracteriza-se por temperaturas médias compreendidas entre -3°C e 18°C para o mês mais frio e superiores a 22°C para o mês mais quente, com chuvas bem distribuídas ao longo do ano e o total anual em torno de 1400 mm (FEPAM 2013).

O trecho de rio onde a espécie ocorre é formado por um lajedo rochoso, o qual é limitado, de um lado, pelo rio Forqueta e, do outro, pela mata ciliar que cobre as encostas íngremes do Perau de Janeiro (Fig. 3). *Melanophryniscus admirabilis* utiliza esse lajedo para reproduzir-se, desovando nas pequenas poças formadas nas cavidades do próprio lajedo. Na estação ou períodos não-reprodutivos (M. Abadie, dados não publicados), os indivíduos são dificilmente observados, estando associados à mata ciliar adjacente. Neste estudo, amostramos somente o sítio reprodutivo da espécie (lajedo rochoso da margem esquerda), a fim de maximizar o encontro dos indivíduos.

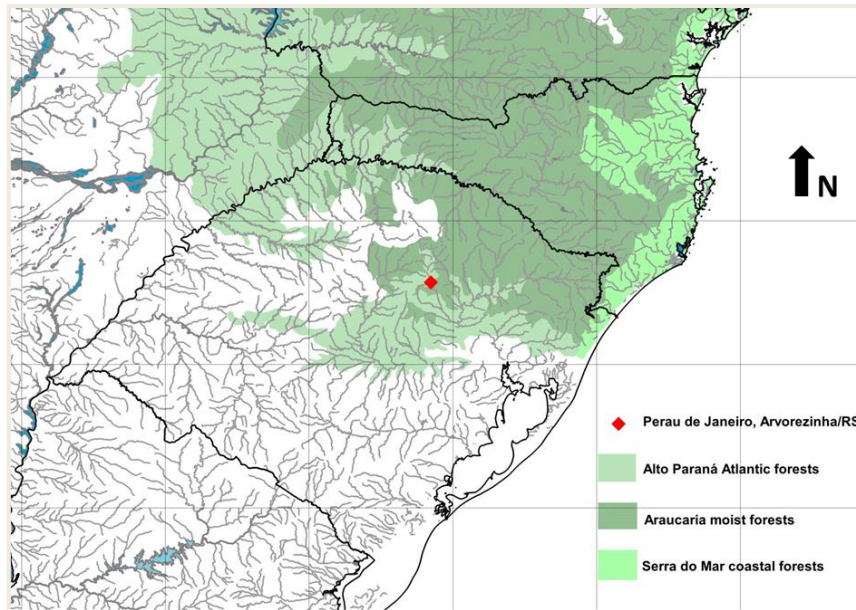


FIGURA 2. Perau de Janeiro, Arvorezinha, Rio Grande do Sul: única localidade de ocorrência conhecida de *Melanophryniscus admirabilis*.



FIGURA 3. Lajedo rochoso no Perau de Janeiro (Arvorezinha, RS), limitado pelo rio Forqueta de um lado e pela mata ciliar, do outro. Foto: Michelle Abadie.

COLETA DOS DADOS – Realizamos um total de 15 sessões de marcação e recaptura entre outubro de 2010 e setembro de 2014. De acordo com os intervalos, agrupamos as saídas

de campo em nove ocasiões primárias. Cada sessão primária variou de 3 a 16 dias de amostragem (cada dia de amostragem aqui é referido como as ocasiões secundárias), resultando em um total de 70 ocasiões amostrais.

Considerando que as espécies do gênero *Melanophryniscus* são principalmente diurnas (Santos & Grant 2011; Peloso *et al.* 2012), amostramos o sítio reprodutivo ao longo do dia. Para localizar os indivíduos, realizamos Procura Visual (*Visual Encounter Survey* – VES; Crump & Scott Jr. 1994), não limitada por tempo, em um transecto de aproximadamente 400 m X 7 m ao longo da margem esquerda do rio. As amostragens iniciaram às 9:00 hs e variaram no tempo de acordo com a abundância dos indivíduos (p.ex. estação reprodutiva ou não). Como amostramos somente o sítio reprodutivo, limitamos nossas análises à população de indivíduos adultos.

Nós dividimos a área de amostragem em 27 segmentos de 15 m cada. Entre outubro de 2010 e outubro de 2011, nós amostramos toda a área diariamente. De julho de 2013 a setembro de 2014, concentramos a amostragem em nove segmentos que apresentavam o maior número de capturas (aproximadamente 80 por cento de todas as capturas foram realizadas nestes segmentos). Como os indivíduos são fiéis ao sítio e pouco se deslocam entre os segmentos (M. Abadie, dados não publicados), a cada dia sorteamos mais seis segmentos para serem amostrados, totalizando 15 por dia.

Os indivíduos capturados foram identificados por meio de fotografias do padrão de manchas ventrais (fotoidentificação), uma técnica pouco invasiva de marcação (Abadie 2012). Nós medimos o comprimento rostro-cloacal (CRC) e a massa de cada um dos indivíduos capturados, com auxílio de paquímetro (resolução de 0.01 mm) e balança (0.1 g), respectivamente. Machos foram identificados através da presença de excrescência sexual nas patas anteriores ou pela emissão de canto de soltura (*release*

call). Fêmeas foram identificadas pela ausência destes caracteres. Após esses procedimentos, liberamos todos os indivíduos no mesmo local de captura.

Utilizamos dados de temperatura e de pluviosidade da estação meteorológica mais próxima, que foram registrados na Estação Automática de Soledade (Instituto Nacional de Meteorologia - INMET), situada a 23 km da área de estudo. Utilizamos também dados de fotoperíodo (obtidos do Observatório Nacional Brasileiro - <http://euler.on.br/ephemeris/index.php>), uma vez que a sazonalidade das espécies de regiões subtropicais e temperadas pode ser parcialmente explicada por essa covariável (Both *et al.* 2008).

MODELO DE MARCAÇÃO E RECAPTURA – Construimos um histórico de capturas para cada indivíduo que foi visto (1) ou não foi visto (0) durante os eventos amostrais. A partir disso, usamos o Desenho Robusto (Pollock 1982) para estimar os parâmetros populacionais, como a probabilidade de sobrevivência aparente (ϕ), emigração temporária (γ), probabilidade de primeira captura (p) e probabilidade de recaptura (c). Para testarmos covariáveis individuais nas probabilidades de captura e de recaptura, nós usamos o estimador “*Huggins closed capture*” (Huggins 1989, 1991). A estimativa do tamanho populacional (N) foi obtida como um parâmetro derivado. Todos os modelos foram construídos no programa MARK (White & Burnham 1999) e levaram em consideração os intervalos desiguais entre as amostragens.

Considerando que a sobrevivência aparente (ϕ) é o produto da sobrevivência real (S) com a fidelidade de sítio (F), quando estimamos ϕ não conseguimos diferenciar a morte da emigração permanente ($1 - F$). Apesar disso, uma vantagem do Desenho Robusto é a estimativa da emigração temporária (γ), que é a probabilidade de um

indivíduo estar indisponível para ser encontrado na área de estudo em uma determinada ocasião primária (Kendall *et al.* 1997). Ou seja, o parâmetro γ define a probabilidade de movimento dos animais para dentro e para fora da área de estudo, alternando entre “estarem” e “não estarem” disponíveis para captura. Logo, para cada intervalo entre as ocasiões primárias, nós estimamos a probabilidade aparente de sobrevivência (ϕ), a probabilidade de emigração temporária da área de estudo (γ'') e a probabilidade de permanecer fora da área de estudo, dado que o animal já estivesse fora anteriormente (γ'). Para cada ocasião secundária (dias de amostragem), nós estimamos a probabilidade dos indivíduos serem capturados ao menos uma vez (p) e a probabilidade dos indivíduos serem recapturados (c) dentro de uma mesma ocasião primária (Fig. 4). A partir das estimativas de abundância (N) de cada período primário, nós estimamos a taxa de crescimento populacional discreto, descrita por $\lambda = N_{t+1} / N_t$, onde λ é um número positivo (taxa) que reflete o crescimento ou a redução da população de um período primário (N_t) para o próximo (N_{t+1}). Valores de λ menores que 1 indicam declínio populacional, maiores que 1 indicam crescimento populacional e exatamente igual a 1, população estável. A fim de obter um único valor para todo o período de estudo, utilizamos a média geométrica para calcular o crescimento populacional médio. Os erros padrão e os intervalos de confiança foram obtidos pelo método delta (*Delta Method, sensu Powell 2007*).

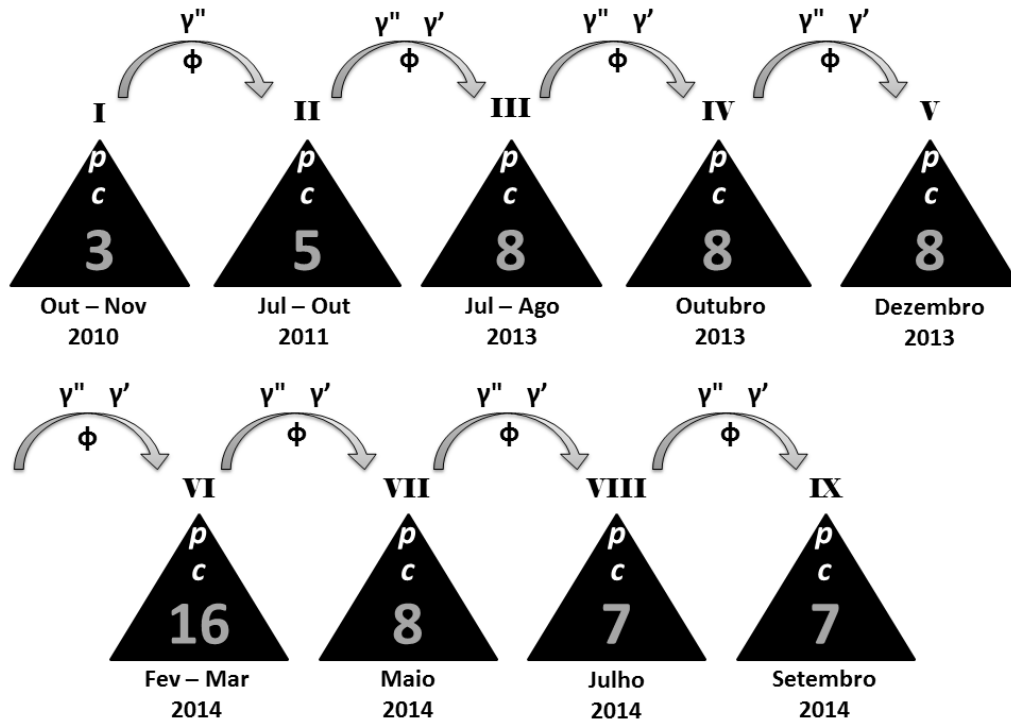


FIGURA 4. Delineamento amostral do estudo de marcação e recaptura e parâmetros reais estimados pelo Desenho Robusto. Cada triângulo representa um período primário (de I a IX). O número dentro de cada triângulo refere-se ao número de ocasiões secundárias (dias de amostragem). Para cada período primário, entre as ocasiões secundárias, a probabilidade de captura (p) e a probabilidade de recaptura (c) são estimadas. Entre essas ocasiões primárias são estimadas a taxa de sobrevivência aparente (ϕ) e taxa de emigração temporária (γ). γ'' representa a probabilidade de o animal emigrar da área amostral (nesse caso, o sítio reprodutivo), enquanto que γ' indica a probabilidade do animal que já estava fora da área de amostragem permanecer fora dela.

Nosso conjunto de modelos incluiu modelos em que a sobrevivência aparente anual permanece constante (\cdot), sem nenhuma covariável, ou é dependente do sexo (SEX). Suspeitamos que exista diferença dependente do sexo, devido provavelmente ao alto investimento energético dedicado à produção dos ovos por parte das fêmeas, como é relatado para muitas espécies de anfíbios (Wells 2007). A emigração temporária foi modelada assumindo um padrão Markoviano de emigração ($\gamma'' \neq \gamma'$),

significando que os indivíduos se movimentam para dentro e para fora da área amostral de maneira não-aleatória (Kendall *et al.* 1997). Construímos modelos em que os padrões de emigração foram dependentes do tempo (t), do fotoperíodo ($PHOTOP$) ou constantes (.).

Por se tratar de uma espécie com reprodução explosiva e os eventos durarem em torno de 2 a 3 dias (M. Abadie, dados não publicados), as probabilidades de captura e de recaptura mudam com o passar do tempo. Assim, assumimos que $p \neq c$, e que c varia no tempo. Por outro lado, modelamos p em função das variáveis ambientais que julgamos serem importantes para acionar o gatilho da reprodução. Logo, modelamos p em função da pluviosidade acumulada dos últimos dias sete dias, dos últimos sete excluindo-se o dia imediatamente anterior, (PLUV7 e PLUV6-1, respectivamente) e da temperatura média do dia (função linear e quadrática; MEANTEMP e MEANTEMP²). As duas covariáveis ambientais foram normalizadas (escore z) para evitar problemas de convergência. Além disso, tanto p quanto c também foram modeladas em função do sexo (SEX), visto que, ainda considerando a reprodução explosiva, as fêmeas tendem a se retirar do sítio reprodutivo antes que os machos (Wells 2007).

A partir de hipóteses biológicas definidas *a priori*, nós construímos 13 modelos candidatos. Como o Desenho Robusto não apresenta um teste de bondade disponível (*Goodness-of-fit*, GOF), nós realizamos o “*median c-hat test*”, usando a abordagem do modelo de Cormack-Jolly-Seber (ocasiões secundárias comprimidas em primárias). A estimativa dos parâmetros foi baseada na máxima verossimilhança, com 95% do intervalo de confiança, com base em transformação *logit*. Comparamos e selecionamos os modelos, usando o Critério de Informação de Akaike (*Akaike's Information Criterion* – AIC) ajustado para tamanhos amostrais pequenos (AIC_c) e para o valor de *c-hat* (QAIC_c; Burnham & Anderson 2002). Em seguida, nós geramos as estimativas dos

parâmetros a partir da média ponderada pelo peso de cada modelo (*model averaging*; Burnham & Anderson 2002). Para reportar os valores de β , usamos o modelo que apresentou o menor valor de QAICc. Todas as rotinas foram implementadas no programa MARK (White & Burnham 1999).

RESULTADOS

Nós realizamos 2147 capturas, correspondendo a 1217 indivíduos adultos marcados (866 machos e 351 fêmeas). O número de capturas variou amplamente entre as ocasiões primárias, de 6 a 575 (Tabela 1). Quarenta por cento dos indivíduos foram recapturados ao menos uma vez e 4.6% (56 indivíduos) de quatro a oito vezes. No total, 152 indivíduos foram recapturados mais de três anos depois da primeira captura (139 machos; 13 fêmeas).

Tabela 1. OCASIÕES de amostragem e número de indivíduos do sapinho-admirável-de-barriga-vermelha *Melanophryniscus admirabilis* capturados ao longo do estudo.

	Ocasão Primária (meses)	Número de				Estação Reprodutiva
		ocasiões secundárias (dias)	Capturas	Indivíduos	Machos Fêmeas	
I	Outubro - Novembro 2010	3	160	152	121 31	Sim
II	Julho - Dezembro 2011	5	562	481	368 113	Sim
III	Julho - Agosto 2013	8	125	110	82 28	Sim
IV	Outubro 2013	8	518	433	323 110	Sim
V	Dezembro 2013	8	96	85	61 24	Sim
VI	Fevereiro - Março 2014	16	17	17	7 10	Não
VII	Mai 2014	8	6	6	5 1	Não
VIII	Julho 2014	7	88	70	55 15	Sim

SELEÇÃO DE MODELOS – Dos 13 modelos candidatos (Tabela 2), dois foram mais parcimoniosos, dividindo o peso do $QAICc$: $S(\text{sex})$ ou $S(\cdot) \gamma''(t) \gamma'(t) p(\text{sex} + \text{MeanTemp} + \text{MeanTemp}^2 + \text{Pluv7}) c(t2 + \text{sex})$. A diferença do delta $QAICc$ para o próximo (terceiro melhor) modelo foi de 102.98. Nosso teste de bondade indicou uma variância no fator de inflação muito pequena ($\hat{c} = 1.08$). Assim mesmo, ajustamos nossa tabela de modelos e variâncias adequadamente.

Tabela 2. RESULTADO da Seleção de Modelos para o estudo de marcação e recaptura realizado com *Melanophryniscus admirabilis*. Covariáveis para os parâmetros: Sex – machos e fêmeas; t = variação temporal; t1 = variação temporal entre ocasiões primárias; t2 = variação temporal entre ocasiões secundárias; MeanTemp = temperatura média do dia; MeanTemp² = temperatura média ao quadrado; Pluv7 = pluviosidade acumulada dos últimos 7 dias; Pluv6-1 = pluviosidade acumulada dos últimos 7 dias excluindo-se as 24h imediatamente anteriores ao dia de amostragem; (.) = parâmetro constante.

Model	QAICc ^a	$\Delta QAICc^b$	AICc Weights ^c	k^d	QDeviance ^e
$\phi(\text{sex}) \gamma''(t) \gamma'(t) p(\text{sex} + \text{MeanTemp}^2 + \text{Pluv7}) c(t2 + \text{sex})$	10566.08	0.00	0.70	84	10391.08
$\phi(\cdot) \gamma''(t) \gamma'(t) p(\text{sex} + \text{MeanTemp}^2 + \text{Pluv7}) c(t2 + \text{sex})$	10567.80	1.72	0.30	83	10394.96
$\phi(\cdot) \gamma''(\text{Photop}) \gamma'(\text{Photop}) p(\text{sex} + \text{MeanTemp}^2 + \text{Pluv7}) c(t2 + \text{sex})$	10669.07	102.99	0.00	45	10577.08
$\phi(\cdot) \gamma''(t) \gamma'(t) p(\text{sex} + t1) c(\text{sex} + t2)$	10857.03	290.95	0.00	88	10673.33
$\phi(\cdot) \gamma''(t) \gamma'(t) p(t1) c(t2)$	10912.04	345.96	0.00	86	10732.69
$\phi(\cdot) \gamma''(\cdot) \gamma'(\cdot) p(t1) c(t2)$	10955.75	389.66	0.00	73	10804.47
$\phi(\cdot) \gamma''(\cdot) \gamma'(\cdot) p(t1) c(t1)$	10983.67	417.58	0.00	20	10943.27
$\phi(\cdot) \gamma''(\cdot) \gamma'(\cdot) p(\text{sex} + \text{MeanTemp}^2 + \text{Pluv7}) c(\text{sex} + t2)$	11069.75	503.67	0.00	43	10981.93
$\phi(\cdot) \gamma''(\cdot) \gamma'(\cdot) p(\text{sex} + \text{MeanTemp}^2 + \text{Pluv6-1}) c(\text{sex} + t2)$	11124.59	558.51	0.00	43	11036.77
$\phi(\cdot) \gamma''(\cdot) \gamma'(\cdot) p(\text{MeanTemp}^2 + \text{Pluv7}) c(t2)$	11158.59	592.51	0.00	41	11074.94

$\phi(\cdot) \gamma''(\cdot) \gamma'(\cdot) p(\text{MeanTemp}^2 + \text{Pluv7}) c(t1)$	11245.99	679.91	0.00	16	11213.73
$\phi(\cdot) \gamma''(\cdot) \gamma'(\cdot) p(\text{MeanTemp} + \text{Pluv7}) c(t1)$	11373.06	806.98	0.00	15	11342.84
$\phi(\cdot) \gamma''(\cdot) \gamma'(\cdot) p(\cdot) c(\cdot)$	11888.90	1322.82	0.00	5	11878.87

^a**QAICc** = Critério de Informação de Akaike ajustado para tamanhos amostrais pequenos e para o valor de *c-hat*

^b Δ **QAICc** = diferença entre o primeiro modelo e o modelo atual

^c**AICc Weights** = peso do modelo (de 0 a 1)

^d*k* = número de parâmetros

^e**QDeviance** = diferença entre o modelo atual e o modelo saturado

As fêmeas apresentaram menor probabilidade de sobrevivência que os machos ($\beta_{\text{sex}} = -0.87$, CI = -1.57 – -0.18), menor probabilidade de captura ($\beta = -1.13$, CI = -1.61 – -0.64) e de recaptura ($\beta = -0.50$, CI = -0.82 – -0.18). A probabilidade de captura foi mais baixa em temperaturas extremas, como demonstrado pelo efeito da relação quadrática ($\beta = -3.00$, CI = -4.00 – -2.00). A pluviosidade acumulada nos últimos 7 dias também apresentou uma relação de importância com o parâmetro *p* ($\beta = 0.13$, CI = 0.07 – 0.20).

As estimativas geradas a partir da média dos modelos (Tabela 3) indicaram sobrevivência anual para os machos de 84 por cento e de 73 por cento para as fêmeas (Fig. 5A); γ'' variou consideravelmente entre os intervalos (0.23 a 0.98) e γ' variou de 0.48 a 0.98 (Fig. 5B). Para o sexto intervalo (entre as ocasiões primárias VI e VII) γ'' não pode ser estimado, tampouco para γ' no primeiro intervalo (entre I e II). De maneira geral, os parâmetros *p* e *c* foram maiores para os machos do que para as fêmeas em todas as ocasiões secundárias (Fig. 6 e 7). Em algumas ocasiões secundárias das primárias III, VI e VII, a probabilidade de recaptura não pode ser estimada. O tamanho populacional estimado de indivíduos adultos flutuou profundamente entre as ocasiões primárias, de 14 (CI = 3 a 25) na estação não-

reprodutiva a 929 indivíduos (CI = 718 a 1140) na estação reprodutiva (Fig. 8). A média geométrica da taxa de crescimento populacional discreta foi de 1.04 (CI = 0.83 a 1.24).

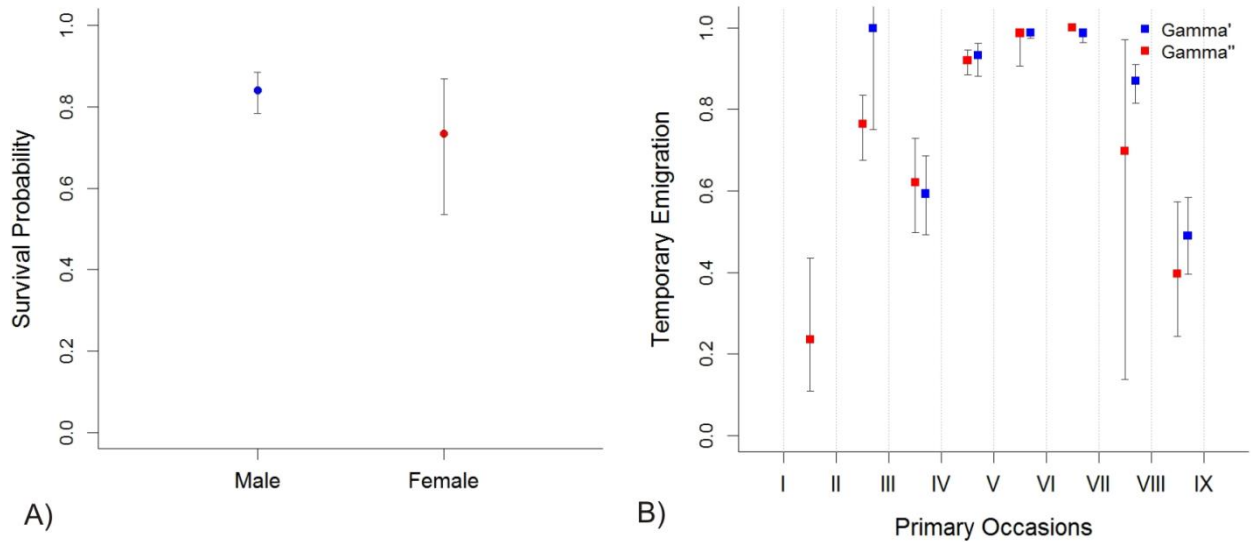


FIGURA 5. Estimativas de abundância e emigração temporária para única população de *Melanophryniscus admirabilis*, geradas a partir da média dos modelos. (A) Probabilidade de sobrevivência aparente anual para Machos e Fêmeas. (B) Taxa de emigração temporária entre as ocasiões primárias: I) Outubro – Novembro de 2010; II) Julho – Dezembro de 2011; III) Julho – Agosto de 2013; IV) Setembro de 2013; V) Dezembro de 2013; VI) Fevereiro – Março de 2014; VII) Maio de 2014; VIII) Julho de 2014; IX) Outubro de 2014. Intervalo de confiança de 95% representado pelas linhas verticais.

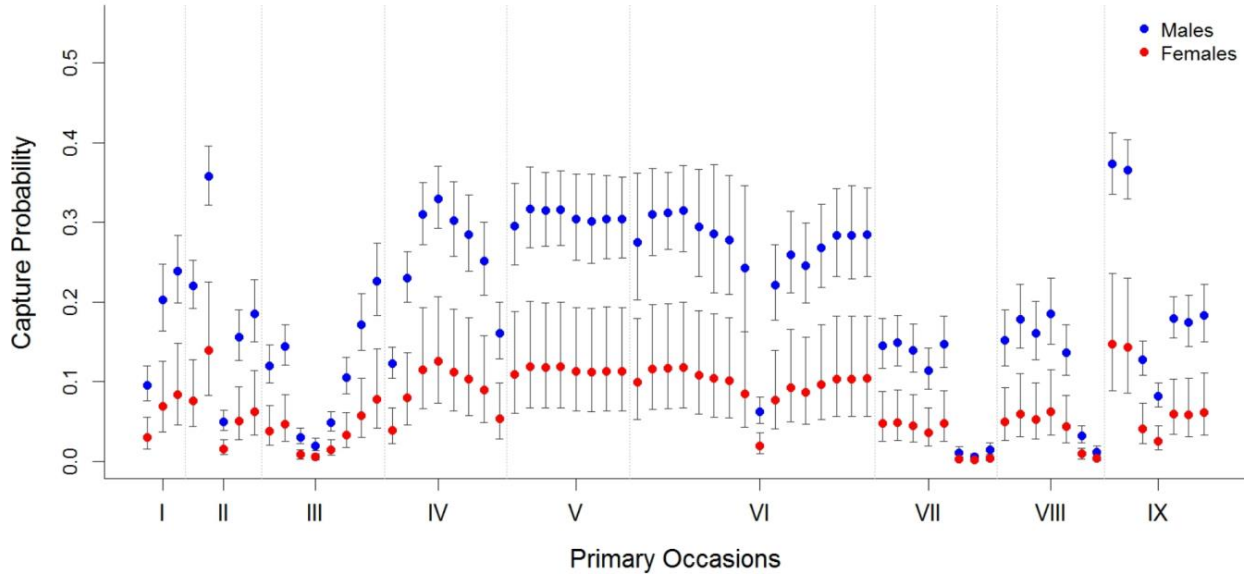


FIGURA 6. Estimativas de probabilidade de captura (p) para única população de *Melanophryniscus admirabilis*, geradas a partir da média dos modelos. Ocasões primárias: I) Outubro – Novembro de 2010; II) Julho – Dezembro de 2011; III) Julho – Agosto de 2013; IV) Setembro de 2013; V) Dezembro de 2013; VI) Fevereiro – Março de 2014; VII) Maio de 2014; VIII) Julho de 2014; IX) Outubro de 2014. Intervalo de confiança de 95% representado pelas linhas verticais.

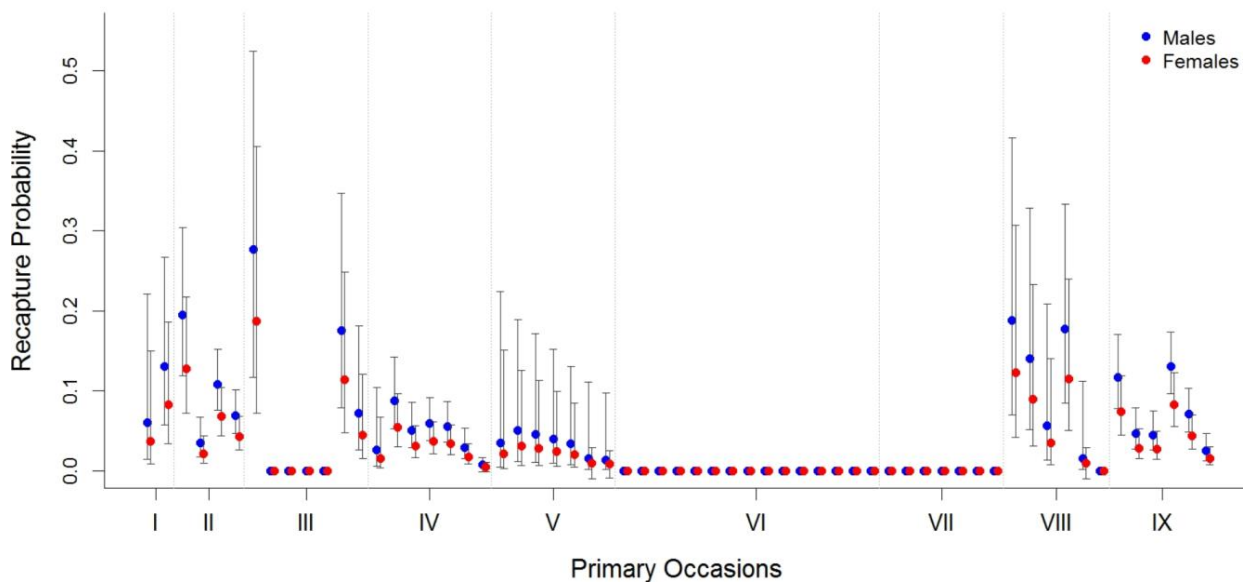


FIGURA 7. Estimativas de probabilidade de recaptura (c) para única população de *Melanophryniscus admirabilis*, geradas a partir da média dos modelos. Ocasões primárias: I) Outubro – Novembro de 2010; II) Julho – Dezembro de 2011; III) Julho – Agosto de 2013; IV) Setembro de 2013; V) Dezembro de

2013; VI) Fevereiro – Março de 2014; VII) Maio de 2014; VIII) Julho de 2014; IX) Outubro de 2014.

Intervalo de confiança de 95% representado pelas linhas verticais.

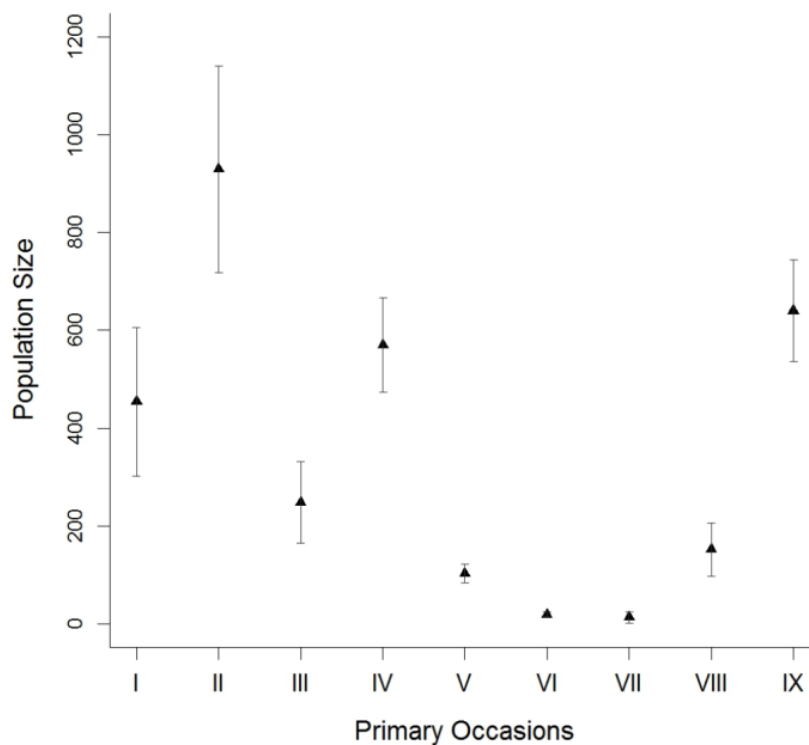


FIGURA 8. Variação das estimativas de tamanho populacional (N) de *Melanophryniscus admirabilis* ao longo do estudo. Ocasões primárias: I) Outubro – Novembro de 2010; II) Julho – Dezembro de 2011; III) Julho – Agosto de 2013; IV) Setembro de 2013; V) Dezembro de 2013; VI) Fevereiro – Março de 2014; VII) Maio de 2014; VIII) Julho de 2014; IX) Outubro de 2014. Intervalo de confiança de 95% representado pelas linhas verticais.

Tabela 3. ESTIMATIVAS máxima e mínima dos parâmetros populacionais de *Melanophryniscus admirabilis*. Estimativas geradas a partir da média dos dois modelos mais parcimoniosos, para Machos e para Fêmeas: $S(\text{sex}) \gamma''(t) \gamma'(t) p(\text{sex} + \text{MeanTemp} + \text{MeanTemp}^2 + \text{Pluv7}) c(t + \text{sex})$ e $S(\cdot) \gamma''(t) \gamma'(t) p(\text{sex} + \text{MeanTemp} + \text{MeanTemp}^2 + \text{Pluv7}) c(t + \text{sex})$.

Estimativas				
Parâmetro	Machos		Fêmeas	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
ϕ	0.84 (0.78 - 0.88)		0.73 (0.53 - 0.86)	
γ''	0.23 (0.10 - 0.43)	0.98 (0.90 - 0.99)	0.23 (0.10 - 0.43)	0.98 (0.90 - 0.99)
γ'	0.48 (0.39 - 0.58)	0.98 (0.97 - 0.99)	0.48 (0.39 - 0.58)	0.98 (0.97 - 0.99)
p	0.005 (0.001 - 0.009)	0.37 (0.33 - 0.41)	0.001 (0.0002 - 0.002)	0.14 (0.08 - 0.23)
c	0.007 (0.001 - 0.016)	0.27 (0.11 - 0.52)	0.004 (0.0009 - 0.01)	0.18 (0.07 - 0.40)

DISCUSSÃO

Estimativas de parâmetros populacionais são essenciais para auxiliar biólogos da conservação no desenvolvimento de ações para espécies ameaçadas (Kaya *et al.* 2010) e assumir a detecção imperfeita é crucial para evitar resultados enviesados dessas estimativas (MacKenzie & Kendall 2002; Guimarães *et al.* 2014a). Há algumas décadas a comunidade científica vem alertando para o declínio global e a perda de populações de anfíbios (Blaustein & Wake 1990; Stuart 2012), mas ainda são poucos os trabalhos que estimam parâmetros populacionais e levam em consideração a probabilidade imperfeita de detecção (Schmidt 2003; Guimarães *et al.* 2014b; Solla *et al.* 2005). Nenhum estudo anterior usou métodos de marcação e recaptura para estimar abundância, sobrevivência aparente, emigração temporária, probabilidade de detecção e taxa de crescimento

populacional para espécies de *Melanophryniscus*, apesar da relevância frente ao alto percentual de espécies ameaçadas no gênero. Nossos resultados demonstraram a aplicabilidade das técnicas propostas, mesmo com as dificuldades inerentes ao comportamento elusivo e o padrão reprodutivo explosivo da espécie.

Nossas estimativas de sobrevivência anual foram muito altas (0.84% para machos e 0.73% para fêmeas), quando comparadas com outros estudos de anfíbios que contam com a detecção imperfeita (e.g. Lampo *et al.* 2012; Newell *et al.* 2013). A alta probabilidade de sobrevivência de *M. admirabilis* pode estar associada ao investimento em sua defesa química contra predadores. Entre os anfíbios da família Bufonidae, *Melanophryniscus* é o único gênero que dispõe de alcaloides lipofílicos para defesa química (Daly *et al.* 1984; Hantak *et al.* 2013). As espécies do gênero acumulam uma grande abundância e riqueza de alcaloides durante toda a vida, a partir da ingestão de artrópodes ricos nessas substâncias tóxicas (Jeckel *et al.* 2015). Quanto mais velho for o sapo, maior é a diversidade de alcaloides encontrados na pele e nos órgãos internos (Jeckel *et al.* 2015; Grant *et al.* 2012). Apesar de ainda não estar claro, o investimento no sequestro de alcaloides pode reduzir a gama de predadores capazes de se alimentar dessas espécies (Toledo & Jared 1995; Savitzky *et al.* 2012; Stynoski *et al.* 2014), assim como minimizar a chance de infecção por parasitas (Grant *et al.* 2012; Mina *et al.* 2015). Machos e fêmeas adultos de *M. admirabilis* foram recapturados quase quatro anos depois da primeira captura, sugerindo que os indivíduos da espécie vivam muitos anos. Um estudo realizado recentemente com *Melanophryniscus moreirae* estima, por meio de osteocronologia, que o tempo de vida dos adultos varia entre 5 a 7 anos em fêmeas, e entre 4 a 8 anos em machos (Jeckel *et al.* 2015).

Nossos resultados apontam para uma taxa de sobrevivência anual maior nos machos (0.84) do que nas fêmeas (0.73). A diferença sexual nas taxas de sobrevivência

em *M. admirabilis* pode ser resultado de um investimento energético maior das fêmeas na gametogênese (Trivers 1972). Além disso, a mortalidade das fêmeas pode ser aumentada nas espécies de reprodução explosiva, em que o número de machos que competem pela mesma fêmea é muito alto (Wells 2007). Briggs & Storm (1970) observaram sete machos em amplexo com uma única fêmea de *Rana cascadae* e indicaram isso como uma fonte de mortalidade. Da mesma forma, Almeida-Santos (2008) sugeriu que tentativas de amplexo de vários machos deslocadores (Wells 2007) foram responsáveis pelas mortes de fêmeas de *Melanophryniscus moreirae*.

Outro fator que também contribui para que a taxa de sobrevivência aparente da população de *M. admirabilis* seja alta é justamente a impossibilidade de diferenciarmos a morte da emigração permanente no modelo robusto. Embora nós não possamos descartar a emigração ou a imigração, a tendência dos indivíduos retornarem aos mesmos segmentos do transecto sugere pouco movimento ao longo do lajedo (no sentido paralelo ao rio). Essa fidelidade de sítio foi observada em aproximadamente 80 por cento das recapturas nesse estudo, mesmo após 3 anos, e sugere a baixa taxa de dispersão da espécie. Por outro lado, pode ocorrer migração entre as margens do rio, visto que ele parece não ser uma barreira geográfica para os sapos (Mendes, T. *dados não publicados*).

A variação temporal observada nas taxas de emigração temporária evidencia a sazonalidade sugerida para a espécie (M. Abadie, dados não publicados). Os valores muito altos atribuídos à emigração temporária provavelmente decorrem do nosso delineamento amostral, o qual foi conduzido apenas no sítio reprodutivo da espécie. Dessa maneira, o encontro dos indivíduos fora do período reprodutivo (primárias VI e VII) foi muito baixo, dado que a grande maioria dos indivíduos não estava disponível para captura na área de estudo. A emigração temporária estima a indisponibilidade dos

indivíduos entre um período primário e outro. Logo, esse parâmetro somente é capaz de mensurar a emigração que ocorre numa escala temporal maior, onde assumimos a população aberta. No entanto, numa escala temporal menor, dentro da estação reprodutiva (Julho a Dezembro), existem as explosões reprodutivas, que são efêmeras no tempo (Wells 2007; M. Abadie, dados não publicados) e que reúnem um grande número de indivíduos. Nessa escala temporal menor, a “indisponibilidade” dos indivíduos acaba sendo tratada pelo modelo como não detectabilidade (tendo um efeito direto sobre os valores de p e c).

Métodos de marcação podem provocar um efeito negativo no comportamento dos anfíbios (Bailey *et al.* 2004; Guimarães *et al.* 2014c), reduzindo a probabilidade de recapturar um indivíduo marcado. Por menos invasiva que seja a fotoidentificação, não podemos excluir a possibilidade de resposta comportamental do tipo “*trap-shy*” (Nichols *et al.* 1984), pois existe, no mínimo, a manipulação dos animais. Além disso, por estarmos amostrando o sítio reprodutivo da população, muitos dos indivíduos estavam em amplexo e precisaram ser separados para a realização das fotografias de marcação. No entanto, acreditamos que as principais diferenças aferidas nas taxas de captura e recaptura não foram em função da manipulação dos indivíduos, mas sim da curta duração das explosões reprodutivas. De qualquer maneira, reforçamos a importância da adoção, sempre que possível, de técnicas pouco invasivas como a fotoidentificação, particularmente em espécies ameaçadas e com distribuições restritas.

A detectabilidade dos anfíbios anuros pode variar consideravelmente de acordo com o padrão reprodutivo (Solla *et al.* 2005). Nosso estudo mostra que tanto a probabilidade de captura quanto a de recaptura se ajustaram à dinâmica das explosões reprodutivas (numa escala temporal menor), variando bastante dentro de cada período primário. Como mencionado, a baixa detectabilidade de *M. admirabilis* parece estar

associada aos dias em que os indivíduos já não estavam se reproduzindo abundantemente (durante a estação reprodutiva) ou não estavam disponíveis para captura.

A detecção também esteve correlacionada com o sexo. Explosões reprodutivas podem ocorrer com alta frequência se as condições ambientais forem adequadas (Wells 2007). Por demandarem mais investimento energético na produção de gametas, as fêmeas necessitam de um período maior para recuperação após o acasalamento. Como resultado, participam menos assiduamente dos eventos reprodutivos do que os machos, especialmente se o intervalo entre esses eventos forem curtos. Em um estudo realizado com *M. cambaraensis*, os autores encontraram que os machos migram para dentro e para fora do sítio reprodutivo com maior frequência que as fêmeas (Santos *et al.* 2010). Dessa forma, as fêmeas que acasalaram em uma explosão reprodutiva imediatamente anterior à amostragem provavelmente não serão detectadas. Outro fator que provavelmente influenciou nas nossas estimativas de detecção foi o sorteio dos segmentos a serem amostrados a cada dia. Considerando a baixa dispersão (mobilidade ao longo do lajedo) da espécie, a probabilidade de capturar os indivíduos que habitam determinado segmento do transecto se torna quase nula caso esse segmento não seja amostrado. Nós observamos o efeito positivo da pluviosidade acumulada nos últimos 7 dias e o efeito negativo de temperaturas extremas na probabilidade de captura, sendo as variáveis abióticas que melhor explicaram o gatilho para a reprodução dos sapos (M. Abadie, dados não publicados).

Nossos resultados indicaram que a abundância de *Melanophryniscus admirabilis* flutuou consideravelmente ao longo do tempo (14 a 929). Considerando que a área amostral era o sítio reprodutivo, podemos inferir que essa flutuação está claramente associada à estação reprodutiva e não corresponde à flutuação real da população. Não

existe nenhum outro estudo anterior que estime a abundância de *M. admirabilis* para comparação. Porém, provavelmente a ocasião primária II seja a que melhor represente o tamanho populacional da espécie ($N_{(II)} = 929$ indivíduos), pois foi a única que incluímos quase toda a estação reprodutiva dentro de um único evento primário, considerando uma população fechada. Nossa estimativa de crescimento populacional discreto demonstra que a população parece estável ($\lambda = 1.04$). Usando exclusivamente a estimativa de abundância para avaliar o *status* de conservação, a espécie também seria categorizada como ameaçada, porém se enquadraria nos limites da categoria Vulnerável (VU, sob critérios D1 ou D2; IUCN 2015). No entanto, considerando a microendemicidade da espécie (extensão de ocorrência = 0.035 Km^2 ; IUCN SSC Amphibian Specialist Group 2013), que aumenta a vulnerabilidade a eventos estocásticos, o risco de extinção é extremamente alto. Logo, mantém-se a avaliação da categoria mais restritiva e a espécie permanece como Criticamente Em Perigo de Extinção (IUCN SSC Amphibian Specialist Group 2013).

Melanophryniscus admirabilis é um anuro microendêmico, criticamente em perigo e elusivo. Grande parte das ameaças sugeridas para esse anuro poderia ser minimizada caso a sua área de ocorrência fosse legalmente protegida: poderia haver controle sobre o impacto causado pelo pisoteio de turistas, sobre a coleta ilegal, sobre a perda de hábitat causado pela expansão das monoculturas e agropecuária, e de certa forma, sobre os insumos agrícolas que são drenados até o rio. Nossos resultados contribuem com informações técnicas necessárias para propor uma Unidade de Conservação na área de ocorrência de *M. admirabilis* e indicam implicações importantes para futuros programas de monitoramento e manejo da população: (1) reforçam a indisponibilidade dos indivíduos no sítio reprodutivo em um dado período do ano (estação não-reprodutiva). A partir dessa informação é possível planejar de

maneira eficiente o monitoramento da população, investindo em um maior número de ocasiões amostrais secundárias na estação reprodutiva e, assim, entender melhor os ciclos reprodutivos da espécie. (2) Ignorar a emigração temporária resultaria em probabilidades de detecção e abundância enviesadas. (3) A partir do modelo de marcação e recaptura pudemos observar a fidelidade dos indivíduos ao sítio. Esse resultado demonstra a importância de incluir nos programas de conservação todos os 700 metros conhecidos de ocorrência da espécie. Recomendamos que o monitoramento da população seja feito de forma continuada e em longo prazo, e que políticas de conservação específicas sejam aplicadas na área de ocupação de *M. admirabilis*, visando manter condições adequadas para a sobrevivência da espécie.

No Brasil, um problema para a manutenção da biodiversidade é a política de desenvolvimento econômico a qualquer custo, dificultando a proteção de áreas e espécies prioritárias (Novaes & Souza 2013). A maioria das espécies do gênero *Melanophryniscus* ocorre em áreas muito pequenas, são endêmicas, ameaçadas ou deficientes de dados (Zank *et al.* 2014; IUCN 2015). A inclusão das espécies em listas de espécies ameaçadas é o primeiro passo para sua conservação. Apesar de UCs constituírem em muitos casos a melhor alternativa de conservação de áreas, ecossistemas e espécies, o país ainda sofre com a falta de informação para o manejo adequado dessas unidades. Nesse contexto, o conhecimento gerado por pesquisas científicas são importantes ferramentas para a conservação. Nosso estudo serve como modelo para o entendimento da dinâmica populacional de outras espécies de anuros ameaçadas ou endêmicas, a fim de planejar programas de conservação e manejo mais adequados com a realidade de cada uma.

AGRADECIMENTOS

Somos profundamente gratos a todos os colegas que fizeram parte da equipe de campo, especialmente Luis F. M. da Fonte, Emanuely Silva, Juliane Heyde, Ismael Brack, Alexis Kellerman e Valentina Caorsi. Nós agradecemos a Ismael Brack e Luis F. M. da Fonte pelos comentários e sugestões sempre muito pertinentes. Nós também agradecemos a Bruna Arbo Menezes pela edição do mapa. Fundação Grupo Boticário, Mohamed Bin Zayed *Species Conservation Fund*, Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Répteis e Anfíbios (RAN/ICMBio) e Programa de Pós Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul pelo financiamento da pesquisa. Ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade pelas licenças de coleta (SISBIO 25463-1 e 40004-1). Este estudo está incluído no Plano de Ação Nacional para Conservação dos Anfíbios e Répteis Ameaçados da Região Sul do Brasil (PORTARIA Nº 22, DE 17 DE FEVEREIRO DE 2012).

LITERATURA CITADA

- ABADIE, M. 2012. Fotoidentificação como alternativa de marcação não invasiva para o sapinho microendêmico *Melanophryniscus admirabilis* (ANURA:BUFONIDAE). Trabalho de Conclusão de Curso, Ciências Biológicas, Instituto de Biociências, Universidade do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2012.
- ALMEIDA-SANTOS, P. 2008. Comportamento reprodutivo de *Melanophryniscus moreirae* (Miranda-Ribeiro, 1920) (ANURA - BUFONIDAE) no planalto do Itatiaia, RJ. Dissertação de Mestrado, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.
- AMPHIBIA WEB: Information on amphibian biology and conservation. [web application]. 2015. Berkeley, California: AmphibiaWeb. Available at: <http://amphibiaweb.org/>. (Accessed: August 25, 2015).
- BAILEY, L. 2004. Evaluate Elastomer Marking and Photo Identifications Methods for Terrestrial Salamanders: Marking Effects and Observer Bias. *Herpetological Review*. 35: 38-41.
- BLAUSTEIN, A. R. AND D. B. WAKE. 1990. Declining Amphibian Populations: A Global Phenomenon? *TREE*. Vol. 5, no. 7.
- BOTH, C., Í. L. KAEFER, T. G. SANTOS, AND S. T. Z. CECHIN. 2008. An austral anuran assemblage in the Neotropics: seasonal occurrence correlated with photoperiod. *J. Nat. Hist.* 42: 205–222.
- BRASIL. 2012 Portaria nº 25, de 17 de Fevereiro de 2012. Aprova o Plano de Ação Nacional para Conservação de Répteis e Anfíbios Ameaçados da Região Sul do Brasil - PAN Herpetofauna do Sul. *Diário Oficial da União, Brasília*, nº 36, p. 67-68, 22/FEV/2012.
- BRIGGS, J. L., AND R. M. STORM. 1970. Growth and population structure of the Cascade frog, *Rana cascadae* Slater. *Herpetologica* 26: 283–300.
- BURNHAM K. P., D. R. ANDERSON. 2002. Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach. SpringerVerlag, New York, 488 p.
- COLOMA, L. A., W. E. DUELLMAN, C. ANA ALMENDÁRIZ, S. R. RON, A. TERÁN-VALDEZ, AND J. M. GUAYASAMIN. 2010. Five new (extinct?) species of *Atelopus* (Anura: Bufonidae) from Andean Colombia, Ecuador, and Peru. *Zootaxa* 54: 1–54.
- CRUMP, M.L., AND N. J. SCOTT Jr. 1994. Visual encounter surveys. *In* W.R. Heyer, M.A. Donnelly, R.W. McDiarmid, L.A.C. Hayek, M.S. Foster, (Eds). *Measuring*

and Monitoring Biological Diversity - Standard Methods for Amphibians, pp. 84-92. Smithsonian Institution Press, Washington D. C.

DALY, J. W., R. J. HIGHET AND C. W. MYERS. 1984. Occurrence of skin alkaloids in nondendrobatid frogs from Brazil (Bufonidae), Australia (Myobatrachidae) and Madagascar (Mantellinae). *Toxicon*. 22(6): 905–19.

DE SOLLA, S. R., L. J. SHIROSE, K. J. FERNIE, G. C. BARRETT, C. S. BROUSSEAU, AND C. A. BISHOP. 2005. Effect of sampling effort and species detectability on volunteer based anuran monitoring programs. *Biol. Conserv.* 121: 585–594.

DECRETO ESTADUAL Nº 51.797 DE 8 DE SETEMBRO DE 2014. 2014. Diário Oficial do Rio Grande do Sul nº 173, de 09 de setembro de 2014.

DI-BERNARDO, M., R. MANEYRO, AND H. GRILLO. 2006. New Species of *Melanophryniscus* (Anura : Bufonidae) from Rio Grande do Sul , Southern Brazil. *J. Herpetol.* 40: 261–266.

FEPAM - Fundação Estadual de Proteção Ambiental. 2013. Diagnóstico Ambiental da Bacia do Taquari-Antas/RS. Disponível em: <http://www.fepam.rs.gov.br/biblioteca/Taquari-Antas/>. Acessado em Maio/2013.

FONTE, L. F. M. DA, M. ABADIE, T. MENDES, C. ZANK, M. BORGES-MARTINS. 2014. The Times they are a-changing: How a Multi-Intitutional Effort Stopped the Construction of a Hydroelectric Power Plant that Threatened a Critically Endangered Red-Belly Toad in Southern Brazil. *FrogLog* 22(4):18-21.

FROST, D. R. 2015. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0 (Date of access). American Museum of Natural History, New York, USA. Electronic Database available at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>.

GARRAFFO, H. M., N. R. ANDRIAMAHARAVO, M. VAIRA, M. F. QUIROGA, C. HEIT, AND T. F. SPANDE. 2012. Alkaloids from single skins of the Argentinian toad *Melanophryniscus rubriventris* (ANURA, BUFONIDAE): An unexpected variability in alkaloid profiles and a profusion of new structures. *Springerplus* 1: 51. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3625416&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.

GALLARDO, J.M. 1961. La ubicación sistemática y distribución geográfica de Brachycephalidae argentinos. In: Iª Reunión de Trabajo y Comunicaciones de Ciencias Naturales y Geografía del Litoral Argentino. Universidad Nacional de Santa Fe, Santa Fe, pp. 205–212.

- GRANT, T., P. COLOMBO, L. VERRASTRO, AND R. A. SAPORITO. 2012. The occurrence of defensive alkaloids in non-integumentary tissues of the Brazilian red-belly toad *Melanophryniscus simplex* (Bufonidae). *Chemoecology* 22: 169–178.
- GUIMARÃES, M., P. F. DOHERTY, AND R. MUNGUÍA-STEYER. 2014a. Strengthening Population Inference in Herpetofaunal Studies by Addressing Detection Probability. *South Am. J. Herpetol.* 9: 1–8. Available at: <http://www.bioone.org/doi/abs/10.2994/SAJH-D-13-00020.1>.
- GUIMARÃES, M., R. MUNGUÍA-STEYER, P. F. DOHERTY JR., M. MARTINS AND R. J. SAWAYA. 2014b. Population Dynamics of the Critically Endangered Golden Lancehead Pitviper, *Bothrops insularis*: Stability or Decline? *Plos One.* 2(4).
- GUIMARÃES, M., D. T. CORRÊA, S. S. FILHO, T. A. L. OLIVEIRA, P. F. DOHERTY, AND R. J. SAWAYA. 2014c. One step forward: contrasting the effects of Toe clipping and PIT tagging on frog survival and recapture probability. *Ecol. Evol.* 4: 1480–90.
- HANTAK, M. M., T. GRANT, S. REINSCH, D. MCGINNITY, M. LORING, N. TOYOOKA, AND R. A. SAPORITO. 2013. Dietary Alkaloid Sequestration in a Poison Frog: An Experimental Test of Alkaloid Uptake in *Melanophryniscus stelzneri* (Bufonidae). *J. Chem. Ecol.* 39: 1400–1406.
- ICMBio. 2014. Lista das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção (Portarias MMA nº 444/2014 e nº 445/2014). <http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/fauna-brasileira/lista-de-especies.html>. Acessado em 15 julho 2015.
- IUCN 2015. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2015.1. <<http://www.iucnredlist.org>>. Downloaded on 04 August 2015.>
- IUCN SSC AMPHIBIAN SPECIALIST GROUP. 2013. *Melanophryniscus admirabilis*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2015.2. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 04 August 2015.
- JECKEL, A. M. 2015. Defesa química em *Melanophryniscus moreirae*: a diversidade de alcaloides aumenta à medida que os indivíduos envelhecem? Dissertação de Mestrado, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.
- KAYA, U., E. BASKALE, I. E. CEVIK, Y. KUMLUTAS, AND K. OLGUN. 2010. Population sizes of taurus frog, *Rana holtzi*, in two different localities, Karagöl and Egrigöl: New estimations, decline, and a warning for their conservation. *Russ. J. Herpetol.* 17: 247–250.
- KENDALL, W. L., J. NICHOLS, AND J. E. HINES. 1997. Estimating temporary emigration using capture – recapture data with Pollock’s Robust Design. *Ecology* 78: 563–578.

- KENDALL, W. L. 1999. The robust design for capture-recapture studies: analysis using program MARK. Available at:
<http://warnercnr.colostate.edu/~gwhite/mark/Hungary/RobustDn.PDF>
- KENDALL, W. L. 2015 The 'robust design'. In: Evan Cooch and Gary White (Eds). Program mark: A gentle Introduction. Available at:
<http://www.phidot.org/software/mark/docs/book/>.
- KÖPPEN, W. 1931. Climatologia. México, Fundo de Cultura Econômica.
- KREBS, C.J. 1999. Ecological Methodology. Menlo Park, California, 619 pp.
- LAMPO, M., S. J. CELSA, A. RODRÍGUEZ-CONTRERAS, F. ROJAS-RUNJAIC, AND C. Z. GARCÍA. 2012. High Turnover Rates in Remnant Populations of the Harlequin Frog *Atelopus cruciger* (Bufonidae): Low Risk of Extinction? *Biotropica* 44: 420–426.
- LEITE, P.F. AND R.M. KLEIN. 1990. Vegetação. *In* Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), Geografia do Brasil, Vol. 2, Região Sul, pp. 113–150. Rio de Janeiro, Brasil.
- MACKENZIE, D. I. AND W. L. KENDALL. 2002. How should detection probability be incorporated into estimates of relative abundance? *Ecology*, 83(9) :2387–2393.
- MAZEROLLE, M.J., L. BAILEY, W. L. KENDALL, J. A. ROYLE, S. J. CONVERSE AND J. D. NICHOLS. 2007. Making Great Leaps Forward: Accounting for detectability in Herpetological Field Studies. *Journal of Herpetology*. 41(4):672-689.
- MINA AE, A.K. PONTI, N. L. WOODCRAFT, E. E. JOHNSON AND R. A. SAPORITO. 2015. Variation in alkaloid-based microbial defenses of the dendrobatid poison frog *Oophaga pumilio*. *Chemoecology*. doi:10.1007/s00049-015-0186-5
- NEWELL, D. A., R. L. GOLDINGAY, AND L. O. BROOKS. 2013. Population Recovery following Decline in an Endangered Stream-Breeding Frog (*Mixophyes fleayi*) from Subtropical Australia. *PLoS One* 8.
- NICHOLS J. D., J.E. HINES, K.H. POLLOCK. 1984. Effects of permanent trap response in capture probability on Jolly-Seber capture-recapture models estimates. *J. Wild. Manag.* 48: 289–294.
- NOVAES, R., AND R. DE FRANÇA. 2012. Legalizing environmental exploitation in Brazil: the retreat of public policies for biodiversity protection. *Trop. Conserv. Sci.* 6: 477–483.

- PELOSO, P. L. V, J. FAIVOVICH, T. GRANT, J. L. GASPARINI, AND C. F. B. HADDAD. 2012. An extraordinary new species of *Melanophryniscus* (Anura, Bufonidae) from southeastern Brazil. *Am. Museum Novit.* 1–32.
- POLLOCK, K. H. 1981. Capture-recapture models: a review of current methods, assumptions and experimental design. Pages 426-435 in C. J. Ralph and J. M. Scott, eds. *Estimating numbers of terrestrial birds.* *Stud. Avian Biol.* 6.
- POLLOCK, K. H. 1982. A capture recapture design robust to unequal probability of capture. *J. Wildlife Manage.*, 46: 752-757.
- POWELL, L. A. 2007. Approximating Variance of Demographic Parameters Using the Delta Method : A Reference for Avian Biologists. *Condor* 109: 949–954.
- PRADEL, R. 1996. Utilization of Capture-Mark-Recapture Study of Recruitment and Population Growth Rate. *Biometrics* 52: 703–709.
- SANTOS, R. R, T. GRANT. 2010. Diel pattern of migration in a poisonous toad from Brazil and the evolution of chemical defenses in diurnal amphibians. *Evol. Ecol.* DOI 10.1007/s10682-010-9407-0.
- SANTOS, R. R., S. B. LEONARDI, V. Z. CAORSI AND T. GRANT. 2010. Directional orientation of migration in an aseasonal explosive-breeding toad from Brazil. *Journal of Tropical Ecology.* 00:1–7. doi:10.1017/S0266467410000180
- SAVITZKY, A. H., A. MORI, D. A. HUTCHINSON, R. A. SAPORITO, G. M. BURGHARDT, H. B. LILLYWHITE AND J. MEINWALD. 2012. Sequestered defensive toxins in tetrapod vertebrates: principles, patterns, and prospects for future studies. *Chemoecology.* 22:141–158
- SCHMIDT, B. R. 2003. Count data , detection probabilities , and the demography , dynamics , distribution , and decline of amphibians. *Oecologia* 326: 119–124.
- STUART, N. S., J. S. CHANSON, N. A. COX, B. E. YOUNG, A. S. L. RODRIGUES, D. L. FISCHMAN. 2004. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science* 306:1783–1786.
- STUART, S. N. 2012. Responding to the amphibian crisis: Too little, too late? *Alytes* 29: 9–12.
- STYNOSKI, J. L., Y. TORRES-MENDOZA, M. SASA-MARIN, AND R. A. SAPORITO. 2014. Evidence of maternal provisioning of alkaloid-based chemical defenses in the strawberry poison frog *Oophaga pumilio*. *Ecology* 95: 587–593.
- TOLEDO, R. C., AND C. JARED. 1995. Cutaneous granular glands and amphibian venoms. *Comp. Biochem. Physiol.* 111: 1–29.

- TRIVERS, R. L. 1972. Parental investment and sexual selection. *In* B. CAMPBELL (Eds). *Sexual selection and the descent of man*, pp. 136–179. Aldine Publishing Company, Chicago, USA.
- WELLS, K. D. 2007. *The ecology and behavior of amphibians*. The University of Chicago Press, Chicago, 1148 pp.
- WHITE, G. C., AND K. P. BURNHAM. 1999. Program MARK: survival estimation from populations of marked animals. *Bird Study* 46 Supplement:120-138.
- WILLIAMS, B. K., J. D. NICHOLS AND M. J. CONROY (2002) *Analysis and management of animal populations*. Academic Press.
- ZANK, C., F. G. BECKER, M. ABADIE, D. BALDO, R. MANEYRO, AND M. BORGES-MARTINS. 2014. Climate change and the distribution of neotropical red-bellied toads (*Melanophryniscus*, Anura, Amphibia): How to prioritize species and populations? *PLoS One* 9: 1–11.
- DONNELLY, M.A. AND C. GUYER. 1994. Estimating population size - Mark-recapture. pp. 183-200. *In*: W.R. Heyer, M.A. Donnelly, R.W. McDiarmid, L.A.C. Hayek, M.S. Foster, (Eds). *Measuring and Monitoring Biological Diversity - Standard Methods for Amphibians*. Smithsonian Institution Press. Washington D. C.

CONCLUSÃO GERAL

Essa dissertação teve como principal objetivo refinar o conhecimento sobre a dinâmica populacional de *Melanophryniscus admirabilis*, uma espécie Criticamente Em Perigo de extinção e endêmica de apenas uma localidade. O conhecimento gerado por este trabalho foi capaz de dar mais subsídios para a avaliação do *status* de conservação e também para o planejamento de programas de conservação, monitoramento em longo prazo e regulamentação do uso da área onde a espécie ocorre.